

0-772293



БАХВАЛОВ

Станислав Андреевич

Влияние взаимоотношений в системе растение-насекомое-паразит
на развитие и популяционную динамику насекомых

03.00.09 – энтомология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Новосибирск – 2008

Работа выполнена в Институте систематики и экологии животных Сибирского отделения
Российской академии наук

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор

Глулов Виктор Вячеславович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор

Колтунов Евгений Владимирович, Бот. сад УНЦ РАН

доктор биологических наук, профессор

Ермакова Надежда Ивановна, ИГАСУ

доктор биологических наук

Баркалов Анатолий Васильевич, ИСиЭЖ СО РАН.

Ведущая организация – Всероссийский НИИ защиты растений РАСХН,
г. С.-Петербург.

Защита состоится « 11 » ноября 2008 г. в 10 часов на заседании диссертационного
совета Д 003.033.01 при Институте систематики и экологии животных СО РАН по
адресу: 630 091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11. Факс: (383) 2170973; e-mail:
dis@eco.nsc.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института систематики и экологии
животных СО РАН.

Автореферат разослан « » сентября 2008 г.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000429012

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Л.В. Петрожицкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Среди многообразия взаимоотношений между растениями и насекомыми важное место занимает фитофагия. В результате коэволюции как у насекомых, так и у растений формируются различные адаптационные механизмы (анатомические, физиологические, экологические и др.), определяющие устойчивое существование системы растение-фитофаг. Вполне закономерно, что изменение состояния одного из звеньев этой системы отразится на другом. А это может приводить к изменению реакций на различные факторы внешней среды.

Исследования взаимоотношений между кормовыми растениями, насекомыми и их паразитами позволили сформулировать концепцию трехкомпонентной системы или системы триотрофа "растение – насекомое – паразит", которая подразумевает комплексные взаимоотношения между кормовым растением, насекомым-фитофагом и его естественными врагами, в первую очередь патогенами и паразитоидами [Вилкова, 1979].

Многочисленные исследования, начиная с работ Р. Пайтнера [1953], свидетельствуют, что качественные показатели кормовых растений (содержание первичных и вторичных метаболитов) оказывают существенное влияние на насекомых-потребителей, определяя их функциональное состояние и динамику численности. Тем не менее, многие годы роли качества корма в жизнеспособности и популяционной динамике фитофагов уделялось мало внимания хотя некоторые авторы отводили качеству корма решающее значение в популяционной динамике насекомых [Руднев, 1962]. Только в конце прошлого столетия огромное количество работ, посвященных взаимосвязи насекомых-фитофагов и растений, позволили признать существенную роль качества корма в жизнеспособности и динамике численности насекомых. Кроме того, имеется большое количество исследований, свидетельствующих о тесной взаимосвязи жизнеспособности насекомых и поражающих их паразитов, т. е. существует опосредованное влияние кормового растения на паразитов насекомых [Hayashiya et al., 1968; Вилкова, 1979; Felton, Duffey, 1990; Forschler et al., 1992; Hoover et al., 1998b; Stout et al., 2006]. Однако остается малоизученным вопрос о взаимоотношениях в системе насекомое - паразит на клеточном и организменном уровнях и влиянии на них кормового фактора. Практически, отсутствуют исследования систем триотрофа, в которых в качестве паразитов выступают вирусы [Boots, 2000]. Известно, что энтомонатогенные вирусы играют важную роль в динамике численности многих видов насекомых, и поэтому на их основе создано большое число биопрепаратов для контроля численности фитофагов. Почти не исследована связь латентных вирусных инфекций насекомых с трофическим фактором. Между тем эти инфекции широко распространены среди насекомых и отмеченная выше важная роль энтомонатогенных вирусов в динамике численности насекомых тесно связана с этими инфекциями [Aruga, 1963; Andrews, 1966; Smith, 1967; Krieger, 1973; Воробьева, 1976; Карпов, 1979; Podgwaite, Mazzone, 1986; Wood et al., 1988].

До настоящего времени практически не исследовался вопрос о влиянии дефолиации растений, и условий их роста, на пораженность насекомых-фитофагов различными инфекциями и паразитоидами. Особенно важны такие исследования в популяциях растений в естественных экосистемах, например в лесных древостоях. Хотя проведено множество исследований по изучению реакции насекомых на экспериментальную и естественную дефолиацию кормовых растений, однозначных ответов на многие вопросы, связанные с этой реакцией не существует [Battisti, 1988; Haukioja, 1991; Wait et al., 1991; Shapiro et al., 1994; Dillon, Chamley, 1995; Meade et al., 1995; Gaylord et al., 1996; Harrison, 1997; McMillin, Wagner, 1997; Zvereva et al., 1997; Kaitaniemi et al., 1998; Moran, 1998; Crone, Jones, 1999; Ossipov et al., 2001; Osier, Lindroth, 2001; Haukioja, 2003]. В частности, остается неизвестным есть ли различия в реакции насекомых на искусственную и естественную дефолиацию, на каком уровне повреждений листы выявляются изменения в содержании защитных химических соединений в растениях и как это отражается на фитофагах. Кроме того, во многих публикациях авторы приводят диаметрально противоположные данные по тому или иному вопросу, относящемуся к этой проблеме.

Изучение закономерностей взаимоотношений в системе: "растение-насекомое-паразит" имеет большое значение для разработки стратегии и тактики управления численностью насекомых в природных и искусственных экосистемах (агроценозах). В частности, при использовании энтомопатогенных вирусных препаратов для защиты естественных и искусственных лесонасаждений. Как показывают исследования, существенные трудности, возникающие при использовании этих препаратов, зачастую связаны с игнорированием закономерностей взаимосвязи и взаимообусловленности функционирования трехкомпонентной системы "растение-насекомое-паразит" [Бахвалов, 2001; 2002; 2005; Мартемьянов, Бахвалов, 2007]. Дальнейший прогресс в использовании биопрепаратов и, в частности, вирусных препаратов против насекомых, возможен только с учетом этих закономерностей, предполагающих разработку новой стратегии применения подобных биопрепаратов. Весьма перспективным в этом направлении представляется введение в состав биопрепаратов вторичных метаболитов растений (аллелохемиков), которые могут подавлять ферментные системы кишечника насекомых, способствуя тем самым повышению эффективности действия патогенов, на основе которых произведены биопрепараты [Бахвалов и др. 2005].

Целью настоящего исследования было изучение взаимоотношений в системе: «растение-насекомое-паразит» и их влияние на развитие и популяционную динамику насекомых.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние кормовых растений на чувствительность насекомых к вирусной инфекции.
2. Изучить влияние лесорастительных условий и поврежденности листьев кормовых растений на сопряженную популяционную динамику непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.), шелкопряда-монашенки (*Lymantria monacha* L.), рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) и их паразитов (вирусов и паразитоидов).
3. Исследовать сопряженную изменчивость генетической структуры вируса ядерного полиэдроза в популяциях непарного шелкопряда на различных фазах вспышки массового размножения насекомого и различных уровнях дефолиации кормовых растений.
4. Изучить влияние дефолиации кормовых растений на основные показатели жизнеспособности насекомых.
5. Изучить влияние дефолиации кормового растения на состояние ферментных систем кишечника непарного шелкопряда, оказывающих влияние на резистентность насекомых к паразитам.
6. Исследовать содержание и динамику вторичных метаболитов в листьях дефолированных растений и их влияние на развитие насекомых.
7. Провести анализ эффективности вирусных препаратов против лесных насекомых и исследовать возможность создания новых энтомопатогенных биопрепаратов и стратегии их применения на основе вирусов и вторичных метаболитов растений.

Положения, которые выносятся на защиту:

1. Дефолиация кормовых растений и лесорастительные условия оказывают существенное влияние на развитие и сопряженную популяционную динамику непарного шелкопряда, шелкопряда-монашенки, рыжего соснового пилильщика и их паразитов – вирусов и паразитоидов.
2. Вид кормового растения и степень дефолиации его листьев оказывают влияние на чувствительность насекомых к вирусной инфекции.
3. Замедленная индуцированная резистентность, формирующаяся в ответ на дефолиацию березы повислой, сопровождается количественными изменениями состава вторичных метаболитов в листьях, вызывает изменения в терморегуляции активности ряда ферментных систем, ответственных за резистентность к паразитам, и является одним из основных показателей жизнеспособности непарного шелкопряда.

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР
ИМ. Н. И. ДОБАЧЕВСКОГО

4. Генетическая структура вируса ядерного полиэдроза и чувствительность непарного шелкопряда к вирусу связаны с фазами вспышки массового размножения этого насекомого и уровнем дефолиации растений.
5. Использование вирусных препаратов против лесных насекомых может быть более эффективным путем создания энтомопатогенных биопрепаратов на основе вирусов и аллелохимиков растений и новой стратегией их применения.

Научная новизна:

1. Впервые проведен комплексный анализ проблемы взаимоотношений в системе: «растение - насекомое - паразит» на примере лесных филлофагов и их паразитов.
2. Показано, что дефолиация кормовых растений и лесорастительные условия оказывают существенное влияние на сопряженную динамику насекомых и поражающих их паразитов.
3. Получены доказательства сопряженной изменчивости геномов ВЯП и чувствительности непарного шелкопряда к вирусу, обусловленной фазами вспышки массового размножения насекомого с различными показателями дефолиации кормовых растений. После достижения популяцией насекомых максимальной численности отмечается увеличение их чувствительности к вирусу и одновременно снижается гибридационная активность штаммов ВЯП, что является следствием роста генетического полиморфизма вируса.
4. Впервые исследована реакция непарного шелкопряда на экспериментальную и естественную дефолиацию березы повислой, основного кормового растения насекомого в Западной Сибири. Установлено, что 75-100%-я дефолиация березы значительно отражается на основных показателях жизнеспособности шелкопряда: смертности в ювенильных фазах развития, плодovitости, соотношении полов и коэффициента размножения.
5. Изучено состояние детоксицирующей и антиоксидантной систем средней кишки гусениц непарного шелкопряда, развивающихся на листьях интактных и поврежденных деревьев. Выявлены изменения в активности ряда ферментных систем в кишечнике насекомых при их развитии на листе поврежденных растений.
6. Показано, что дефолиация березы сопровождается количественными изменениями состава вторичных метаболитов, в первую очередь фенольных соединений в листьях.
7. Проведен анализ возможности использования закономерностей взаимоотношений в системе: «растение-насекомое-вирус» для управления численностью насекомых. Современная ситуация с использованием вирусных препаратов против лесных насекомых может быть радикально улучшена путем создания комплексных энтомопатогенных биопрепаратов на основе вирусов и аллелохимиков растений и разработки новой стратегии их применения.

Практическая значимость работы. Тесная взаимосвязь и взаимообусловленность динамики компонентов трофической цепи: «растение – насекомое – паразит», выявленные в исследованиях, позволяют внести коррективы в современные подходы к созданию биопрепаратов, в частности вирусных, и стратегии их применения. Оригинальные результаты исследований о влиянии качества корма на развитие и популяционную динамику насекомых показывают, что существенное повышение эффективности вирусных биопрепаратов против насекомых может быть получено при введении в их состав вторичных метаболитов растений (аллелохимиков). Повреждение растений филлофагами вызывает увеличение количества аллелохимиков в листьях, что способствует развитию индуцированной энтоморезистентности растений. Введение аллелохимиков в состав биопрепаратов может увеличивать их эффективность на 20-25%. Кроме того, можно утверждать, что применяемая сейчас стратегия использования вирусных препаратов для подавления численности лесных насекомых должна быть изменена. Сущность ее изменений заключается в дифференцированном подходе к применению вирусных препаратов в очагах, находящихся на различных фазах вспышки массового размножения. Необходим переход к проведению защитных мероприятий против лесных насекомых на начальной фазе вспышки массового размножения. Это потребует увеличения количества биопрепарата на единицу площади насаждений не менее, чем в 10 раз, однако за счет значительно меньших объемов обработок по площадям его расход будет также меньшим. По сути речь идет о замене стратегии управления численностью массовых видов

насекомых, предусматривающей подавление развившихся очагов вредителей, стратегией предупреждения их развития.

Апробация работы. Материалы по теме диссертации были доложены на Всесоюзной межвузовской конференции по ветеринарной вирусологии (Москва, 1973), на Всесоюзной конференции по микробиологическим методам защиты растений (Кишинев, 1976), на 3-й Всесоюзной конференции по аэрозолям (Москва, 1977), на Международном коллоквиуме по патологии беспозвоночных (Прага, 1978), на 7-й научной конференции молодых ученых (Новосибирск, 1983), на VI совещании энтомологов Сибири (Новосибирск, 1985), на Всесоюзной научно-практической конференции "Достижения науки и передового опыта защиты леса от вредителей и болезней" (Пушкино, 1987), на Всесоюзной научной конференции "Энтомопатогенные вирусы и их роль в защите растений", на отраслевом совещании "Биологические и технологические проблемы создания вирусных препаратов для интегрированной защиты растений" (Новосибирск, 1989), на международном симпозиуме по биологической и интегрированной борьбе с вредителями в лесных биоценозах (Боржом, 1989), на Российской аэрозольной конференции (Москва, 1993), на международной научно-практической конференции "Производство и применение биологических средств защиты растений от вредителей и болезней" (Одесса, 1994), на Всероссийском научно-производственном совещании по экологически безопасным и беспестицидным технологиям получения растениеводческой продукции (Краснодар, 1994), на 8-м международном конгрессе по химии пестицидов (Вашингтон, 1994), на Всероссийском съезде по защите растений (Санкт-Петербург, 1995), на XIII международном конгрессе по защите растений (Гаага, 1995), на второй научной конференции Новосибирского отделения Паразитологического общества РАН "Паразиты и вызываемые ими болезни в Сибири" (Новосибирск, 1997), на XI Съезде Русского энтомологического общества (Санкт-Петербург, 1997), на конференции "Беспозвоночные животные Южного Зауралья и сопредельных территорий" (Курган, 1998), на международном симпозиуме "Биологическая и интегрированная защита леса" (Пушкино, 1998), на научно-производственной конференции "Применение биологических препаратов для защиты лесных насаждений" (Бердск, 1998), на международном симпозиуме "Сохранение и защита горных лесов" (Ош, 1999), на научно-практической конференции "Защита лесов России и перспективы ее развития" (Пушкино, 1999), на международном симпозиуме "Biodiversity and dynamics of ecosystems in North Eurasia" (Novosibirsk, 2000), на Первом и Втором межрегиональных семинарах по мониторингу и защите леса (Красноярск, 2000; 2001), на международном семинаре "Basic science in ISTC activities" (Новосибирск, 2001), на 5-th Korea-Russia international symposium on science and technology" (Томск, 2001), на конференции, посвященной 90-летию со дня рождения А.А. Ляпунова (Новосибирск, 2001), на "XI International Conference IBFRA Workshop GOF-C (Krasnoyarsk, 2002), на "VIIth European Congress of Entomology" (Thessaloniki, 2002), на XII Съезде Русского энтомологического общества (С.-Петербург, 2002), на "38th Annual Meeting Society for Invertebrate Pathology" (Anchorage, 2002), на Сибирской зоологической конференции (Новосибирск, 2004), на II-й межрегиональной научной конференции паразитологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 2005), на "25th Jubilee assembly of East paleartic regional section" (Budapest, 2005), на VII межрегиональном совещании энтомологов Сибири и Дальнего Востока в рамках Сибирской зоологической конференции (Новосибирск, 2006).

Публикации. По защищаемой специальности автором опубликовано 126 научных работ, из которых 98 непосредственно касаются диссертационной темы. В журналах рекомендованных для публикации ВАК Российской Федерации, опубликовано 22 статьи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 287 страницах машинописного текста, состоит из введения, 7 глав, заключения и выводов. Список литературы включает 482 источника, в том числе 348 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 43 рисунками.

Материалы, объекты и методы исследований. Лабораторные исследования проведены автором в лаборатории вирусологии, а впоследствии лаборатории патологии

насекомых ИСиЭЖ СО РАН. Полевые исследования проводились в естественных и искусственных лесонасаждениях, заселенных насекомыми на территории ряда областей, республик и краев Российской Федерации (Новосибирская, Тюменская, Ростовская и Волгоградская области, Республика Алтай и Алтайский край).

Кормовыми растениями насекомых, которые использовались для исследований по дефолиации и динамике вторичных метаболитов, были береза повислая (*Betula pendula* Roth) и сосна обыкновенная (*Pinus silvestris* L.). В исследованиях в качестве корма использовалась также искусственная питательная среда (ИПС), приготавливаемая по методике Ильиных и др. [1996].

Исследования проводились на непарном шелкопряде, шелкопряде-монашенке и рыжем сосновом пилильщике. Полевые исследования проводились на насекомых природных популяций, а лабораторные исследования – на насекомых, собранных в естественных условиях в фазе личинки или яйца и выращиваемых в полевой или стационарной лаборатории.

В экспериментах использовались штаммы вирусов ядерного полиэдроза непарного шелкопряда, шелкопряда-монашенки и рыжего соснового пилильщика, которые являются основой вирусных препаратов Вирин-НШ (экспериментальный), Вирин-ППМ и Вирин-Диприон, соответственно. В опытах, связанных с управлением численностью насекомых, применялись названные вирусные препараты. При лабораторных и полевых исследованиях, связанных с определением этиологии смертности насекомых, помимо вирусных, определялись бактериальные, грибные и протозойные инфекции, а также пораженность ювенильных фаз паразитоидами. Определение паразитоидов проводилось Н. Г. Коломийцем. Яйцекладки для выращивания насекомых собирали в естественных популяциях в различные периоды популяционного цикла, в зависимости от цели конкретного эксперимента.

Гусениц в лабораторных экспериментах инфицировали вирусом путем обработки корма суспензией полиэдров в 0,9%-м р-ре NaCl. Концентрация полиэдров в суспензии, количество используемой суспензии и возраст инфицируемых личинок зависели от цели эксперимента. Инфицирование насекомых при изучении JK_{50} и LT_{50} вируса проводили по Ашмарину, Воробьев, [1962].

Патологические изменения в организме насекомых после инфицирования исследовали описанными ранее методами [Бахвалов, Девятьярова, 1980; Бахвалов и др., 1981; Бахвалов и др., 1982; Бахвалов, 1987; Гдунов и др., 1997; Бахвалов, 2001].

Диагностику вирусной и других инфекций у насекомых проводили по внешним признакам и микроскопическому исследованию внутренних органов и тканей по Вейзер, [1972], Вейзер, Бригс, [1976]. Пораженность паразитоидами ювенильных фаз развития шелкопрядов и рыжего соснового пилильщика определяли по Ильинский, Тропин [1965], Коломиец, Аргамонов [1994]. Биохимические показатели состояния ферментных систем в кишечнике и гемолимфе непарного шелкопряда изучали описанными ранее методами [Бахвалов и др., 2001; 2002; 2003; 2005; Мартемьянов, Бахвалов, 2007].

Для изучения содержания аллохимиков в листьях деревьев нами совместно с сотрудниками Института органической химии СО РАН под руководством д.б.н. Э. Э. Шульц разработан оригинальный метод выделения и анализа этих веществ из листьев березы, который был использован в исследованиях [Шульц и др., 2004].

Сравнительную характеристику биологической активности вирусных препаратов Вирин-НШ и Джипчек (Gyrcheck) при выращивании на различном корме проводили по описанной ранее методике [Бахвалов и др., 2005].

Все полевые исследования, направленные на изучение естественной динамики численности насекомых, опыты по искусственному изменению их численности, а также исследования по влиянию искусственной дефолиации на развитие насекомых проводили в чистых березовых и сосновых насаждениях методами, описанными ранее [Бахвалов и др., 1982; 1995; 1999; 2002; 2003]. Продуктивность древостоев, возраст и полноту насаждений, оценку оптимальных и пессимальных условий их развития оценивали по Анучин [1982].

При изучении фаз популяционной динамики лесных насекомых использовали критерии, разработанные и обычно применяемые отечественными исследователями при

лесопатологическом мониторинге [Ильинский, Тропин, 1965; Викторов, 1967; Исаев и др., 1984].

Уровень поврежденности древостоев, объедаемых шелкопрядом, проводили по разнице средневзвешенных показателей изреженности крон (дефолиации), определяемых визуально по пятибальной шкале в процентах перед повреждениями и после них [Инструкция, 1983; Методика... 1985].

Изучение естественного вирусоносительства ВЯП и его связи с состоянием кормового ресурса в популяциях непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, а также взаимосвязь популяционной динамики непарного шелкопряда, состояния кормового ресурса и генетического полиморфизма ВЯП проводили по ранее описанным методикам [Ильинских и др., 1995; Бахвалов и др., 1998; Бахвалов и др., 2002; 2003].

Внесение вирусных препаратов в насаждения проводили с помощью аэрозольного диспергирования (генераторы серии ГРД) в механическом режиме и авиационного опрыскивания самолетом АН-2, оборудованного серийной опрыскивательной аппаратурой. Количество вносимого препарата варьировало в зависимости от целей эксперимента, состояния популяции насекомого и лесонасаждений.

Достоверность различий между показателями результатов исследований оценивали по критериям Уэлча [Кендалл, Стьюарт, 1973], с помощью t-критерия Стьюдента и дисперсионного анализа [Плюхинский, 1970; Гублер, 1978; Доспехов, 1985]. Данные в экспериментах по инфицированию насекомых вирусом для определения величин LK_{50} обрабатывали с помощью пробит-анализа [Busvine, 1971]. Величины LD_{50} и LT_{50} определяли по методу Кербера [Ашмарин, Воробьев, 1962]. Гибель насекомых определяли по формуле Аббота [Ар, 1963].

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Влияние кормовых растений на чувствительность насекомых к вирусной инфекции и ее развитие в организме хозяев.

Многочисленными исследованиями показано, что чувствительность к патогенам и характер течения различных инфекционных процессов у насекомых зависит от функционального состояния их организма на которое существенное влияние оказывают качественные показатели корма [Штейншнауц, 1952; Вейзер, 1972; Krieg, 1973; Тарасевич, 1975; Воробьева, 1976; Глухов, Бахвалов, 1998; Бахвалов, 2001, 2005]. Развитие насекомых на предпочитаемых, не предпочитаемых или на поврежденных кормовых растениях может существенно влиять на смертность, плодовитость и резистентность насекомых, что отражается на течении различных инфекций, в том числе и вирусной природы [Берриман, 1990; Felton, Duffley, 1990; Forschler et al., 1992; Бахвалов, 1995; 2001; 2005; Hoover et al., 1998b; Stout et al., 2006].

В наших опытах по изучению влияния различного корма на чувствительность шелкопряда к ВЯП выявлено, что состав корма существенно изменяет показатели LK_{50} вируса для насекомых одной популяции [Бахвалов и др., 2002]. Дальнейшими исследованиями было выявлено, что средний показатель $IgLK_{50}$ вируса для гусениц шелкопряда из четырех западносибирских популяций при выращивании их на листьях березы составил $5,37 \pm 0,09$, на листьях ивы - $5,11 \pm 0,08$, а на хвое сосны - $4,89 \pm 0,07$ ($P < 0,05$). Известно, что береза является предпочитаемым кормом для непарного шелкопряда в условиях Западной Сибири, ива - менее предпочитаемым, а сосна не предпочитаемым. Приведенные показатели $IgLK_{50}$ вируса свидетельствуют, что чувствительность насекомых к вирусу была наивысшей при выращивании гусениц на не предпочитаемом корме - хвое сосны, а наименьшей на предпочитаемом корме - листьях березы.

Изучение влияния вирусной инфекции на гемограмму и цитоморфологические изменения в различных клетках гусениц непарного шелкопряда из популяции на различных фазах вспышки массового размножения выявило различия в динамике гемограммы, популяционной структуре гемоцитов и морфогенезе вируса в гемоцитах, вызванные вирусной инфекцией. Первые морфологические признаки вирусной инфекции после инфицирования

ВЯП в организме большинства исследованных гусениц из растущих очагов с незначительными повреждениями деревьев регистрировали на 5-е сутки после перорального инфицирования. У незначительного количества исследованных особей (12,5%) в этот период выявили в отдельных гемоцитах виропласты и формирующиеся в них вирионы. Достоверных изменений в структуре гемограммы в этот период не отмечено, как по цитохимическим, так и по морфометрическим признакам. На 9-е сутки после инфицирования у 39 % гусениц регистрировали патологические изменения в гемоцитах, в клетках жирового тела и других органах с образованием виропласта, вирионов и полиздров. Как правило, данные особи в последующие сутки погибали от полиздроза. Остальные инфицированные насекомые выживали и завершали развитие с нормальной репродуктивной функцией, хотя у большинства в гемоцитах имелись признаки вирусной инфекции - конденсация хроматина в ретко гипертрофированных ядрах, образование виропласта и репликация вирусов. При этом формирование типичных полиздров в гемоцитах наблюдали редко, в основном отмечали aberrantные полиздроподобные структуры или отдельные фрагменты полиздров, содержащие единичные вирионы. Виропласт в гемоцитах большей частью состоял из колесобразных структур в отличие от глобулярных образований, характерных для типичного морфогенеза вирусов. Изменения в динамике гемограммы инфицированных гусениц также выявили на 9-е сутки после заражения. При этом изменения регистрировали, как при использовании морфометрических, так и цитохимических параметров. Как правило, с этого времени у контрольных гусениц из лабораторной популяции начиналось снижение количества гемоцитов с фенолоксидазной активностью (ФО-положительные гемоциты). Количество НСТ - положительных гемоцитов (клетки, в которых образуются активированные метаболиты кислорода) у контрольных гусениц практически оставалось неизменным в течение всего опыта, за исключением 11-х суток, когда было зарегистрировано резкое снижение этих клеток. У инфицированных гусениц выявили повышение содержания ФО-положительных и НСТ-положительных гемоцитов начиная с 9-х суток и до конца наблюдений (17-е сутки). Одновременно у больных особей регистрировали увеличение количества гранулоцитов на фоне снижения плазматоцитов, и подобное соотношение типов клеток сохранялось в последующие дни наблюдений. Достоверных отличий в изменении количества других типов клеток крови не отмечено, как и в общем количестве гемоцитов у контрольных и опытных гусениц в течение всего опыта. Следует отметить, что начиная с 9-х суток после инфицирования, в гемоцитах больных гусениц изменяется характер отложения формазана. В отличие от гемоцитов контрольных гусениц в гемолимфе больных гусениц полностью исчезают клетки с диффузной окраской цитоплазмы, характерной, как правило, для плазматоцитов, но увеличивается количество клеток с крупными гранулами формазана. На 17-е сутки практически все гемоциты несут гранулы формазана, хотя часть гемоцитов, в которых количество гранул не превышало десяти, мы относили к НСТ-отрицательным. Поскольку ранее нами было показано, что гусеницы из природной популяции, которая находится в фазе роста численности, характеризуется высокими показателями жизнеспособности [Бахвалов, 1995], то можно полагать, что наблюдавшаяся картина патогенеза в гемоцитах характерна для насекомых с высокой жизнеспособностью. В то же время при инфицировании вирусом гусениц непарного шелкопряда, собранных в очаге массового размножения, достигшего максимальной плотности насекомых с высокими показателями дефолиации деревьев развитие патогенеза и популяционной структуры гемоцитов происходило иначе. Достоверные изменения в гемограмме большинства гусениц наблюдались уже на 4-е сутки после заражения вирусом, причем было зафиксировано резкое увеличение плазматоцитов и прогемоцитов на фоне снижения количества гранулоцитов. Активность фенолоксидазы в гемоцитах и ряда ферментных систем, способных продуцировать активированные метаболиты кислорода, может служить показателем метаболической активности клетки, в частности, продукции ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} , NO^{\cdot} , RO_2^{\cdot} и т.д.). Образование подобных высокорективных соединений в гемоцитах может определять функциональную значимость последних в цитотоксических реакциях при гранулообразовании и инкапсуляции, т.е., служить параметрическими признаками напряженности клеточного иммунитета насекомых.

Исследования по влиянию качества корма на динамику морфогенеза ВЯП и патологических изменений в клетках жирового тела, а также на формирование цист («поликариоцитов») в гемолимфе гусениц непарного шелкопряда не выявили различий по этим параметрам в клетках гусениц, выращиваемых на листьях интактных и двукратно дефолированных на 75% деревьев. Описанные выше изменения в морфологии клеток и образование в них вирусных структур были сходными в клетках обеих групп гусениц. Исключение составляла только выраженность вирусной инфекции. В хорошо развитом жировом теле гусениц, развивавшихся на листьях интактных деревьев количество инфицированных клеток, с выраженным морфогенезом вируса и патологическими изменениями клеточных структур, было выше в первые 9 суток после инфицирования, по сравнению с жировым телом гусениц, выращиваемых на листе поврежденных деревьев. Только через 15 суток эти показатели сравнивались в гусениц обеих групп. Количество «поликариоцитов» в гемолимфе гусениц контрольной и опытной групп не достигало различий в течение срока наблюдений, однако тенденция к большему количеству этих образований у гусениц, выращиваемых на листе интактных деревьев, наблюдалась на 6-е и 9-е сутки опыта. Через 15 суток в группе насекомых, выращиваемых на листе интактных деревьев, погибли 77,3% особей, а в группе, развивающихся на листе поврежденных деревьев – 67,9% ($P < 0,05$). Только через 17 дней после инфицирования количество погибших насекомых опытной группы достигло показателей контрольной группы.

Таким образом, можно констатировать, что у большинства инфицированных ВЯП гусениц непарного шелкопряда из растущих очагов массового размножения и очагов, достигших максимальной численности насекомых, соответственно, с низкими и высокими показателями дефолиации деревьев наблюдаются различия в динамике гемограммы, морфогенезе вируса в гемоцитах и популяционной структуре гемоцитов.

Влияние лесорастительных условий и поврежденности листвы кормовых растений на развитие и сопряженную популяционную динамику насекомых и их паразитов – вирусов и паразитов

Развитие и сопряженная популяционная динамика шелкопряда - монашенки с поражающим его бакуловирусом исследовалась в двух участках леса с различными биотопическими условиями. Основное различие между исследуемыми участками лесонасаждений с различными биотопическими условиями, где обитали насекомые, заключалось в условиях произрастания кормового растения. В участках с пессимальными условиями они были неблагоприятными (класс бонитета - 3), а с оптимальными – благоприятными (класс бонитета -1). Исследовали шесть параметров системы: «растение – фитофаг – патоген»: плотность яйцекладок шелкопряда в насаждениях, их жизнеспособность, плотность гусениц 4-6-го возраста, смертность насекомых от спонтанной вирусной инфекции, чувствительность гусениц к инфицированию ВЯП (ЖК₅₀ вируса) и структуру изреженности крон кормового растения насекомом-сосны *Pinus sylvestris* L. Результаты исследований показали, что пораженность шелкопряда-монашенки спонтанной вирусной инфекцией существенно варьирует от практически единичных случаев в фазе роста численности популяции до массовых заболеваний и гибели насекомых, в фазе собственно вспышки и, особенно, в фазе деградации. При этом абсолютные показатели смертности насекомых от вирусной инфекции для участков с оптимальными и пессимальными лесорастительными условиями значительно отличаются. Различаются также показатели плотности яйцекладок шелкопряда в этих участках в период вспышки массового размножения. В насаждениях с пессимальными лесорастительными условиями плотность яйцекладок была достоверно выше во всех фазах вспышки массового размножения (для $P=0,05$, $t_0=2,2 > t_{1-1,96}$) кроме последнего года фазы деградации. Однако плотность гусениц старших возрастов в фазе роста численности в обоих типах участков не имела достоверных различий (для $P=0,05$, $t_0=1,2 < t_{1-1,96}$ и $t_0=1,09 < t_{1-1,96}$). В то же время плотность гусениц старших возрастов для участков с контрастными лесорастительными условиями в фазах собственно вспышки и деградации различались более, чем 10 раз. Поскольку средние показатели жизнеспособности яиц в анализируемых участках в

соответствующие периоды вспышки не имели достоверных отличий – $93,2 \pm 0,3\%$ и $92,7 \pm 0,2\%$ соответственно ($P > 0,05$). Полученные нами данные по динамике численности шелкопряда-монашенки можно объяснить более высокой смертностью гусениц младших возрастов в насаждениях с оптимальными лесорастительными условиями по сравнению с пессимальными. В конце фазы роста и в фазе собственно вспышки популяции шелкопряда-монашенки, то есть в периоды нанесения популяцией фитофага основных повреждений древостоям, средневзвешенный показатель изреженности крон составил для участков с оптимальными биотопическими условиями 18,2, а с пессимальными – 41,3 ($P < 0,01$).

Таким образом, динамика численности шелкопряда-монашенки и, соответственно, уровень пораженности насекомых вирусной инфекцией связаны с биотопическими условиями среды обитания. В стационарной фазе численности и фазе роста пораженность насекомого бакуловирусной инфекцией имеет наиболее низкий уровень в течение всего популяционного цикла. При этом в фазе роста численности гибель шелкопряда от вирусной инфекции в наблюдаемых биотопах не имела достоверных отличий ($t_{\text{ф}} = 1,38 < t_{\text{т}} = 1,96$ в 1980 г. и $t_{\text{ф}} = 0,5 < t_{\text{т}} = 1,96$). В этот же период отмечается и наиболее низкая чувствительность шелкопряда к экспериментальному инфицированию вирусом, которая достоверно не отличается для особей из контрастных биотопов. По мере роста плотности популяции возрастает чувствительность особей к экзогенному инфицированию вирусом. После достижения популяцией максимальной плотности, то есть при переходе популяции в фазу собственно вспышки, смертность насекомых в насаждениях от спонтанной вирусной инфекции начинает резко возрастать. Причем амплитуда показателей уровня спонтанной вирусной инфекции в исследуемый период выражена значительно меньше для насекомых из участков с оптимальными биотопическими условиями. При низких значениях плотности насекомых в фазе деградации смертность гусениц и куколок от вирусной инфекции может существенно повлиять на численность шелкопряда в оптимальных биотопах. Так, смертность насекомых от ВЯП в насаждениях с оптимальными лесорастительными условиями в фазе деградации была максимальной за весь период наблюдений. Вероятно, это связано с известной инерционностью действия бакуловирусной инфекции как фактора популяционной динамики насекомого. Максимум гибели насекомых от вирусной инфекции в насаждениях с пессимальными лесорастительными условиями отмечен в начале фазы разрежения, т. е. раньше на 1 год по сравнению с насаждениями с оптимальными растительными условиями. В стационарной фазе численности гибель насекомых от вирусной инфекции была минимальной в обоих биотопических участках. Исходя из этого, можно утверждать, что вирусная инфекция не оказывает выраженного влияния на динамику численности шелкопряда-монашенки на низких уровнях численности. Это подтверждает широко известные данные других авторов [Викторов, 1971; Исаев и др., 1984; Beguman, 1988; 2002].

Полученные результаты показывают наличие тесной взаимосвязи между динамикой численности шелкопряда-монашенки и его пораженностью вирусом ядерного полиэдроза. Поскольку численность насекомого тесно коррелирует с дефолиацией кормовых растений, то можно предположить, что уровень дефолиации растения опосредованно через фитофага влияет на пораженность насекомых вирусной инфекцией. В фазе роста численности насекомых, когда повреждения растений незначительные, жизнеспособность особей была максимальной, а уровень пораженности их спонтанной вирусной инфекцией и чувствительность к инфицированию экзогенным вирусом – минимальными. В фазе собственно вспышки, при высоких показателях изреженности крон деревьев

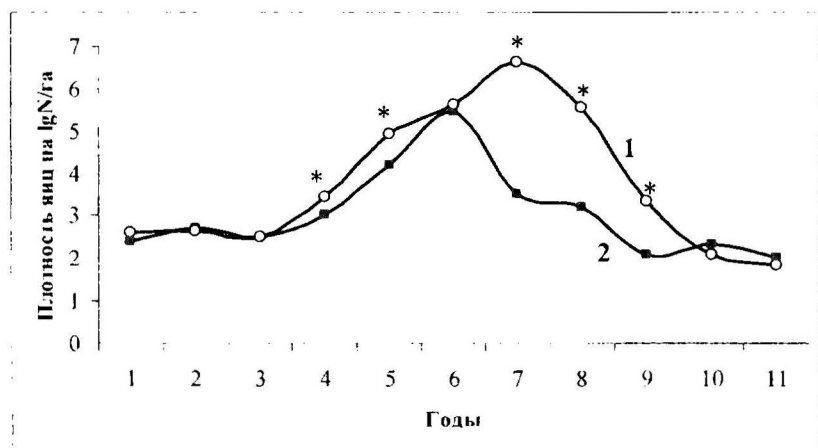
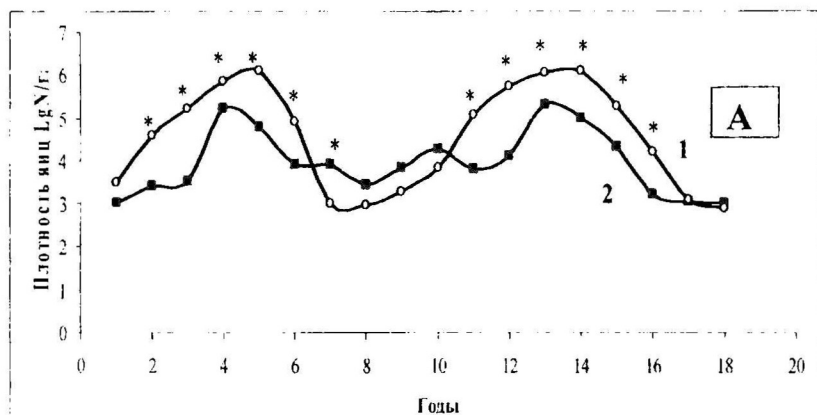


Рис. 1. Амплитуда колебаний плотности и продолжительность вспышек массового размножения непарного шелкопряда (А) и шелкопряда-монашенки (Б) в низкопродуктивных (1) и высокопродуктивных (2) насаждениях.

Примечание. - достоверность различий. * $P \leq 0,05$; А- 4-5, 7-9; Б-2-7, 11-16 гг.

жизнеспособность популяции фитофага стремительно ухудшается: возрастает смертность, падает плодовитость, увеличивается общая чувствительность к стресс-факторам, в том числе и к вирусной инфекции. В фазе деградации, после максимальных повреждений растений в течение нескольких лет ухудшение показателей жизнеспособности достигает максимальных значений, и в результате регистрируется прямо противоположная картина того, что наблюдалось в фазе роста (рис.1). В этот период, по-видимому, латентная вирусная инфекция переходит в активную форму и вызывает массовые заболевания, после чего в популяции остаются только устойчивые особи, и затем цикл повторяется. Сходные результаты получены рядом авторов для других видов насекомых и поражающих их вирусов [Бенкевич, 1984; Воробьева, 1976; Рафес, 1978; Ермакова, Ефимов, 1995]. Поскольку количество корма и и

условия его потребления в исследуемых нами биотопах были сходными, можно предположить, что различия в динамике, жизнеспособности особей и их чувствительности к вирусу обусловлены качеством корма. В наших исследованиях численность монашенки не достигала максимальных значений в оптимальных биотопах, где защитные свойства хвои, вероятно, были выше. Выжившие в младших возрастах гусеницы наряду с устойчивостью к токсическому действию корма, по-видимому, обладали и повышенной устойчивостью к вирусному патогену. В то же время в пессимальных биотопах, где защитные свойства древостоев, по-видимому, ниже, наблюдалась и более низкая гибель гусениц в младших возрастах, а в старших возрастах в популяции преобладали особи с пониженной жизнеспособностью и повышенной чувствительностью к вирусному патогену. Сходные данные получены нами при исследовании сопряженной динамики непарного шелкопряда и поражающего его вируса ядерного полидброза. Эти исследования также показали, что амплитуда флуктуаций плотности непарного шелкопряда и продолжительность вспышек его массового размножения различаются в лесонасаждениях с различным уровнем продуктивности, т. е. с пессимальными и оптимальными лесорастительными условиями. Изучаемые показатели динамики популяции непарного шелкопряда близки аналогичным показателям для монашенки (рис. 1). В то время, как численность насекомых в низкопродуктивных насаждениях в период вспышки массового размножения достигала величин, способных неоднократно уничтожить кормовой ресурс, численность насекомых в высокопродуктивных древостоях, как правило, могла привести к уничтожению не более, чем 50 % кормового ресурса.

Массовое появление насекомых в высокопродуктивных насаждениях также продолжалось более короткий отрезок времени и, как следствие, здесь были значительно меньше повреждены листья и хвоя. Средневзвешенный показатель изреженности крон высокопродуктивных березовых насаждений, заселенных непарным шелкопрядом в период вспышки, составил 31,4 балла, а в низкопродуктивных 47,5 баллов ($P < 0,05$). Смертность, вызванная вирусом ядерного полидброза в ювенильных фазах развития непарного шелкопряда в период вспышки, в высокопродуктивных древостоях, как и у шелкопряда-монашенки была существенно ниже, чем в низкопродуктивных. В результате в популяции происходило накопление особей с пониженной жизнеспособностью, более восприимчивых к патогенам. Такие особи, как правило, погибают на стадии гусениц старших возрастов и куколок от вирусной и других инфекций. Они успевают до гибели нанести существенные повреждения древостоям, поскольку питаются почти до момента своей гибели. Поэтому динамика численности гусениц старших возрастов в период вспышки массового размножения в насаждениях с различными лесорастительными условиями существенно отличается.

Важную роль лесорастительных условий в реализации энтоморезистентности древостоев подтвердили также результаты наших опытов по созданию искусственных очагов массового размножения насекомых в высокопродуктивных насаждениях (табл. 1). Данные таблицы позволяют предположить, что основным фактором, из-за которого не развивались очаги массового размножения насекомых, был высокий уровень энтоморезистентности древостоев. Основная часть популяции насекомых в этих насаждениях погибла в младших возрастах гусениц, когда патогены и паразитоиды практически не оказывают влияния на численность насекомых, а гибель происходила, в основном, из-за неблагоприятных условий питания, обусловленных резистентностью древостоев [Ильинский, Тропин, 1965]. Характерно, что коэффициент размножения насекомых в искусственных очагах в трех случаях из пяти в год внесения яиц в насаждения был выше единицы, что свидетельствовало о росте плотности популяции. Однако коэффициент размножения последующих генераций в этих очагах резко снизился, и они прекратили существование. Во всех пяти искусственных очагах в год начала эксперимента не отмечалось заметной дефолиации древостоев.

Мы проводили исследования по выявлению влияния лесорастительных условий в которых находились древостои на пораженность непарного шелкопряда и рыжего соснового пилильщика наряду с вирусной, другими инфекциями, а также паразитоидами. Исследования в популяциях насекомых проводились в насаждениях различной продуктивности, различного уровня дефолиации крон и сроков ее осуществления.

Таблица 1

Численность насекомых в насаждениях с искусственными очагами массового размножения шелкопрядов.

Насекомое (Наименование)	Популяция	Количество нежизнеспособных яиц (%)	фактор смертности гусениц и куколок в год внесения яиц в очаги (% от общего числа погибших)			коэффициент размножения	
			неблагоприятные условия питания и другие причины неинфекционной этиологии	патогены (в т. ч. ВЯП)	паразиты	1-й год	2-й год
шелкопряд монашеская	новосибирская	$7,0 \pm 0,7$	$78,7 \pm 2,4$	$3,9 \pm 1,6$	$10,4 \pm 2,6$	1,13	0,08
	колыванская	$3,8 \pm 0,6$	$82,5 \pm 3,6$	$12,9 \pm 2,7$	$0,8 \pm 0,4$	0,79	0,01
	инимская	$4,3 \pm 0,6$	$70,7 \pm 4,8$	$22,5 \pm 3,2$	$5,6 \pm 2,5$	1,11	0,03
неп. шелкопряд	ордынская	$5,7 \pm 0,9$	$85,8 \pm 1,9$	$0,7 \pm 0,6$	$7,8 \pm 2,1$	1,51	0,25
	инимская	$2,7 \pm 0,5$	$81,3 \pm 3,4$	$1,4 \pm 1,1$	$14,6 \pm 3,9$	0,69	0,02

В табл. 2. приведены результаты исследований показателей жизнеспособности популяции непарного шелкопряда в очаге массового размножения в лесонасаждениях на

Таблица 2.

Динамика показателей жизнеспособности популяции непарного шелкопряда в очаге массового размножения в насаждениях Баганского района*

Уровень и кратность дефолиации	Смертность в ювенильных фазах	Плодовитость (вес куколок-самок, мг)	Половой индекс	К-во яиц в кладке	Жизнеспособность яиц (%)	Коэфф. размножения
1-й год после двукратных сплошной дефолиации	$77,3 \pm 1,2$ $48,3 \pm 1,9$ $P < 0,001$	$354,2 \pm 25,1$ $697,3 \pm 36,1$ $P < 0,001$	$0,32$ $0,52$ $P < 0,001$	$111,1 \pm 7,4$ $212,7 \pm 14,0$ $P < 0,001$	$71,0 \pm 3,1$ $90,4 \pm 2,2$ $P < 0,001$	$0,1$ $3,7$ $P < 0,001$
2-й год после двукратных сплошной дефолиации	$84,1 \pm 1,6$ $52,3 \pm 2,8$ $P < 0,001$	$311,4 \pm 27,7$ $397,2 \pm 29,1$ $P < 0,01$	$0,32$ $0,44$ $P < 0,01$	$94,2 \pm 3,3$ $114,7 \pm 8,2$ $P < 0,05$	$61,9 \pm 2,3$ $78,4 \pm 2,3$ $P < 0,05$	$0,07$ $0,41$ $P < 0,001$

* - в числителе показатели популяции из дефолированных древостоев, а в знаменателе из контрольных.

территории Баганского района Новосибирской обл. Как видно из таблицы все показатели жизнеспособности шелкопряда в очаге массового размножения в следующем году, после двукратной сплошной дефолиации, существенно отличались от аналогичных показателей популяции насекомых в контрольных насаждениях. Эти показатели свидетельствовали, что насекомые из популяции в насаждениях через год после двукратной сплошной дефолиации значительно менее жизнеспособны по сравнению с насекомыми из контрольных насаждений.

Свидетельством этого является уровень пораженности гусениц и куколок паразитоидами: наездниками, мухами-тахинами и саркофагами, а также вирусной инфекцией. В контрольных посадках паразитоидами было поражено $34,2 \pm 2,2\%$ особей, а в посадках, где наблюдались сплошные повреждения, - $45,2 \pm 4,3\%$. ($P < 0,05$). Вирусной инфекцией были поражены $9,0 \pm 0,9\%$ и $17,2 \pm 2,9\%$ особей, соответственно ($P < 0,01$). В то же время, пораженность насекомых грибными инфекциями в поврежденных и intactных древостоях достоверно не отличалась ($P > 0,05$). В следующем сезоне, т. е. через два года после двухлетней сплошной дефолиации посадок шелкопряда в них продолжался резкий спад численности насекомых с выраженным изменением показателей жизнеспособности популяции фитофага (табл. 2). Резко увеличилась гибель гусениц и куколок в т. ч. от различных инфекций и паразитоидов. Смертность в преимагинальных фазах, обусловленная неясной этиологией, была очень высокой и составила $26,3 \pm 1,9\%$. Абсолютное большинство насекомых с этой этиологией смертности погибли в первых двух гусеничных возрастах. Паразитоиды были причиной гибели большинства насекомых в старших возрастах гусениц и куколок - $43,6 \pm 2,2\%$, в то время как моно- и полиинфекции вызвали гибель $14,2 \pm 2,4\%$ особей, причем вирусная инфекция была причиной гибели $10,8 \pm 1,9\%$ гусениц и куколок, а микозы - $1,8 \pm 0,35\%$. Остальные насекомые погибли от протозойных и бактериальных инфекций. Таким образом, падение численности популяции непарного шелкопряда в сильно повреждавшихся посадках была вызвана ростом пораженности насекомых паразитоидами, резким увеличением смертности в младших возрастах и распространением инфекций, среди которых ведущую роль играл ядерный полидроз. Гибель насекомых с различной этиологией происходила на фоне низкой жизнеспособности популяции вследствие чего и наблюдалась высокая смертность в ювенильных возрастах.

В другом очаге массового размножения шелкопряда в лесонасаждениях на территории Чановского района мы провели оценку важнейших показателей жизнеспособности гусениц непарного шелкопряда и популяционной структуры их гемоцитов при различном уровне дефолиации березовых насаждений. Оценка популяционной структуры гемоцитов использовалась как высокочувствительный тест, отражающий функциональное состояние организма насекомого. Однократная искусственная 50%-я дефолиация березы не вызывала увеличения смертности, уменьшения плодовитости или изменения полового индекса у непарного шелкопряда, развивающегося на деревьях, поврежденных в минувшем вегетационном сезоне. В то же время однократная искусственная 75%-я дефолиация березы приводила в следующем сезоне к увеличению смертности в ювенильных фазах развития насекомого и смещению соотношения полов в пользу самцов. При этом плодовитость шелкопряда не изменялась. В случае естественной (объедание шелкопрядом) 75%-й дефолиации березы смертность в ювенильных фазах развития в следующем сезоне возрастала еще больше, увеличивалось количество самцов в популяции и, кроме того, уменьшалась плодовитость насекомых дочерней генерации. Мы предположили, что такие изменения показателей физиологического состояния насекомого обусловлены, вероятней всего, замедленной (выявляемой в следующем после дефолиации сезоне) индуцированной резистентностью березы возникшей после 75%-й дефолиации деревьев (Бахвалов и др., 2002). В экспериментах, проводившихся в этом очаге массового размножения с насекомыми, выращиваемыми на листе искусственно дефолированных деревьев, мы не выявили достоверных изменений показателей жизнеспособности и гемограммы у непарного шелкопряда в сезон нанесения 50%-х и 75%-х искусственных повреждений (табл. 3). У свободноживущих гусениц, в очаге массового размножения после естественного однократного 75%-го объедания деревьев выявлены изменения в содержании плазматочитов и гранулоцитов по сравнению с контролем. Однако показатели жизнеспособности этих насекомых оставались на уровне контроля (табл. 3). Эти данные свидетельствовали об отсутствии быстрой индуцированной резистентности растений к насекомым после однократного искусственного 50%-го и 75%-го повреждения деревьев и ее низком уровне при 75%-ом естественном повреждении. После двукратной 50%-й искусственной дефолиации увеличилась смертность насекомых и количество самцов, но плодовитость не изменилась (табл. 3). Аналогичные

естественные повреждения древостоев насекомыми вызвали рост паразитизма, уменьшение плодовитости и увеличение количества самцов в популяции. Двукратная 75%-я искусственная и естественная дефолиация березы существенно уменьшали плодовитость насекомых, увеличивали общую смертность и количество самцов шелкопряда, причем смертность при искусственной дефолиации возрастала значительно меньше, чем при естественной (табл. 3). Среди насекомых в очаге массового размножения после двукратной 75%-й дефолиации деревьев резко увеличивалась смертность от паразитоидов и различных инфекций. Эти результаты показали, что только двукратная 50%-я и 75%-я дефолиации индуцируют у деревьев повышение резистентности по отношению к шелкопряду, причем ее выраженность существенно выше у растений, поврежденных на 75%. Доля прогемоцитов, энцитонидов и сферулоцитов в гемолимфе насекомых не менялась при одно- и двукратной 50% и 75%-й искусственной дефолиации, хотя тенденция к росту удельного веса прогемоцитов и энцитонидов прослеживается. Среди насекомых в очаге по мере возрастания уровня дефолиации обнаруживается неуклонная тенденция к увеличению доли прогемоцитов, которая при двукратной 75%-й дефолиации достигает достоверных отличий ($p < 0,01$) в сравнение с контролем. При этом уровне дефолиации наблюдается также увеличение доли сферулоцитов и энцитонидов, не достигающее, однако, достоверных отличий от гемограммы гусениц из интактных

Таблица 3

Жизнеспособности непарного шелкопряда в эксперименте и в естественных условиях после одно и двукратной дефолиации.

способ дефолиации	уровень дефолиации (%)	Смертность в ювенильных фазах (%)			плодовитость (вес куколок-самок, мг)	Половой индекс
		общая	в том числе			
			паразитоиды	инфекции		
искусственное удаление листьев	1 x 50	47,2 ± 4,7	8,7 ± 2,5	17,2 ± 2,9	501,3 ± 16,2	66,0 ± 3,3
	1 x 75	40,9 ± 3,8	10,0 ± 3,8	16,7 ± 2,9	529,8 ± 17,1	59,5 ± 3,8
	2 x 50	54,8 ± 3,1*	15,6 ± 2,5	22,9 ± 3,1	488,3 ± 16,3	69,8 ± 2,0*
	2 x 75	56,9 ± 4,6*	16,8 ± 3,7	24,2 ± 4,2	460,3 ± 12,5 **	71,7 ± 2,6*
	Контроль	44,3 ± 4,4	13,9 ± 3,4	18,1 ± 3,8	518,2 ± 14,9	63,1 ± 2,8
естественная дефолиация	1 x 50	32,6 ± 2,7	10,3 ± 1,6	5,8 ± 1,0	579,3 ± 28,9	52,1 ± 2,4
	1 x 75	42,4 ± 2,8	14,2 ± 1,1	7,0 ± 1,1	619,4 ± 31,8	61,2 ± 4,4
	2 x 50	57,5 ± 4,1	20,0 ± 1,8*	13,8 ± 1,3	441,3 ± 28,2	68,7 ± 4,5*
	2 x 75	76,4 ± 4,2 ***	35,9 ± 4,7***	32,9 ± 4,6 **	420,1 ± 22,5 ***	77,4 ± 1,9 ***
	Контроль	38,4 ± 4,9	11,2 ± 3,1	9,6 ± 2,9	565,3 ± 33,9	56,8 ± 3,9

Различия с контролем: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

насаждений. Выраженность различий всех исследованных показателей жизнеспособности непарного шелкопряда, развивающегося на интактных и поврежденных растениях, была выше в насаждениях, где происходило естественное обьедание древостоев насекомыми (табл. 3).

Если исходить из той роли, которая отводится большинством исследователей различным популяциям гемоцитов насекомых [Gupta, 1979; Ratcliffe, Rowley, 1979; Глунов, Бахвалов, 1998], можно констатировать, что однократная 75%-я естественная, двукратные искусственная и естественная 50% и 75%-я дефолиации березы вызывает у непарного

шелкопряда значимые изменения в составе иммунокомпетентных клеток гемолимфы - удельный вес плазматоцитов и прогемоцитов возрастает, а гранулоцитов - падает. Известно, что прогемоциты являются полипотентными клетками лимфы насекомых, их сравнивают со стволовыми клетками позвоночных, из которых в процессе дифференциации образуются остальные клетки гемолимфы [Gupta, 1979; Ratcliffe, Rowley, 1979; Лупов, Бахвалов, 1998]. Повышение удельного веса плазматоцитов происходит, главным образом, за счет снижения доли гранулоцитов, которым принадлежит важная роль в жировом обмене организма насекомого. Известно, что клетки гемолимфы и жирового тела на природе, происхождению и функциям очень близки, и поэтому жировое тело насекомых и гемолимфу часто рассматривают как единую систему тканей внутренней среды [Тыщенко, 1976]. В связи с этим можно предположить, что изменения популяционной структуры гемоцитов и, в частности, снижение относительного количества гранулоцитов в гемолимфе отрицательно отражается на плодovitости насекомых, поскольку она является функцией веса куколок, а их вес зависит от массы жирового тела, биохимически тесно связанного с клетками гемолимфы. Кроме того, у гусениц, развивающихся на деревьях, двукратно обедненных шелкопрядом на 75%, увеличивается количество прогемоцитов. Поскольку прогемоциты считаются родоначальными клетками гемолимфы насекомых [Тыщенко, 1976; Gupta, 1979; Ratcliffe, Rowley, 1979], то можно полагать, что двукратная 75%-я дефолиация кормового растения вызывает в нем реакцию, которая является для насекомого-филлофага мощным стрессом, вызывающим весьма существенные изменения в популяционной структуре гемоцитов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что двукратная 50%-я и 75%-я дефолиация березы повислой индуцирует изменение в физиологическом состоянии насекомых, которое отражается в снижении плодovitости, увеличении количества самцов, повышении смертности в ювенильных возрастах и активизацию у насекомых пролиферативных процессов в гемолимфе. При однократном 75%-м обеднении деревьев шелкопрядом у гусениц выявляются только изменения в количестве плазматоцитов и гранулоцитов.

В естественных условиях двукратная 50%-я и 75%-я дефолиация березы непарным шелкопрядом наблюдается обычно в конце эруптивной фазы вспышки насекомого, после которого начинается резкое падение ее размеров и, соответственно, дегрaляция очагов массового размножения. Поэтому можно предположить, что индуцированная дефолиацией резистентность древостоев является одним из факторов, регулирующих численность непарного шелкопряда.

Мы провели сравнительное исследование реакции шелкопряда из двух очагов массового размножения, находящихся в лесонасаждениях на территории Татарского и Чановского районов Новосибирской области на индуцированную резистентность деревьев и инфицирование ВЯП. Очаги насекомого в период проведения исследований находились в эруптивной фазе вспышки с близкими показателями дефолиации древостоев.

Выявлено, что развитие инфицированных вирусом и интактных насекомых из очага в Татарском районе на листе искусственно дефолированных на 100% в предыдущем году деревьев, приводит к снижению массы гусениц и куколок самок, по сравнению контролем. При изучении причин смертности насекомых в исследуемых группах установлено, что при питании неинфицированных гусениц листьями поврежденных деревьев двукратно увеличивается количество особей, погибших от различных инфекций (грибы, бактерии, простейшие) и других факторов, кроме вирусной инфекции, по сравнению с контролем ($P < 0,01$). В то же время смертность инфицированных насекомых от вирусной инфекции при выращивании их на листе поврежденных деревьев не имела достоверных отличий от смертности насекомых от этой инфекции при выращивании их на листе контрольных деревьев ($P > 0,05$). Таким образом, подтверждено наличие замедленной индуцированной резистентности у поврежденных деревьев по отношению к непарному шелкопряду, реакцией на которую является снижение массы гусениц и куколок, а также увеличение гибели насекомых от инфекционных заболеваний (кроме вирусной инфекции) и факторов неинфекционной природы. Увеличение количества насекомых, погибших от спонтанных инфекций (за исключением вирусной

инфекции) и других факторов при питании листовой поврежденного растения, вероятно, связано с ослаблением иммунитета насекомых. В то же время, индуцированная энтормезистентность растения не ослабляет или даже активизирует иммунитет насекомого против ВЯП. Наиболее вероятным объяснением этого феномена является то, что снижение массы гусениц и куколок происходит, в основном, за счет резкого уменьшения массы жирового тела где, как известно, реплицируется большая часть урожая вируса. Поэтому гибель гусениц от вирусной инфекции в младших возрастах, когда жировые запасы, практически отсутствуют, наблюдается весьма редко. В то же время, как мы писали выше, в очагах массового размножения непарного шелкопряда, находящихся в эруптивной фазе вспышки с высоким уровнем дефолиации древостоев, как правило, наблюдается резкое увеличение гибели гусениц и куколок от полидроза. Это объясняется очень низкой жизнеспособностью насекомых и, соответственно, весьма слабым иммунитетом против скрытой (эндогенной) инфекции, вследствие которой происходят массовые заболевания насекомых. В проводившихся нами экспериментах инфицирование гусениц шелкопряда осуществлялось перорально экзогенным вирусом, т. е. вирусом, находящимся вне организма насекомого - хозяина. Вероятно, в кишечнике происходит частичная или полная инактивация вируса ферментными системами, активировавшимися под действием защитных метаболитов из дефолированных растений.

Исследование реакции непарного шелкопряда из очага, действовавшего в лесонасаждениях на территории Чановского р-на, на индуцированную резистентность деревьев и инфицирование ВЯП в целом подтвердило результаты вышеописанного опыта. Масса гусениц, развивавшихся на листьях деревьев, дефолированных в предыдущем году, на 13 сутки после начала питания была достоверно ниже массы гусениц, развивавшихся на листьях интактных деревьев ($p < 0.05$). Развитие насекомых на листьях деревьев, полностью дефолированных в предыдущем году, приводило также к существенному снижению массы гусениц, но статистически достоверные отличия по сравнению с контролем наблюдались только на 16 - 25 сутки питания на опытных растениях. Инфицирование насекомых вирусом в данном эксперименте не оказывало влияния на массу гусениц, развивающихся на листьях дефолированных на 75% деревьев, однако приводило к достоверному снижению массы насекомых, питающихся листовой полностью дефолированных деревьев. Суммарная смертность инфицированных ВЯП гусениц, развивающихся на листьях полностью дефолированных деревьев, увеличилась в два раза по сравнению с контрольными насекомыми. Однако аналогичный показатель для инфицированных ВЯП гусениц, развивавшихся на листьях дефолированных на 75% деревьев, не имел достоверных отличий от контроля. В то же время при выращивании интактных гусениц на листьях тотально дефолированных деревьев их суммарная смертность более, чем в 2,5 раза, превышала смертность в контроле. В отличие от предыдущего опыта с насекомыми из очага в Татарском р-не, смертность от полидроза инфицированных ВЯП насекомых из очага в Чановском р-не увеличивалась независимо от уровня дефолиации березы. Вероятно, жизнеспособность насекомых из этого очага массового размножения была ниже, чем из предыдущего очага. Количество насекомых, погибших от неинфекционных причин, наоборот, достоверно снижалось при инфицировании гусениц ВЯП, по сравнению с соответствующими неинфицированными вариантами, за исключением варианта 100%-ой дефолиации, в котором отмечалась только тенденция такого снижения.

Поскольку в описанных выше опытах из двух очагов размножения шелкопряда с идентичными характеристиками были получены различные результаты по смертности насекомых от полидроза, мы с целью выяснения причины этих различий провели изучение популяционной структуры ВЯП непарного шелкопряда по вирулентности и репродуктивной активности в насекомых, выращиваемых на листьях дефолированных деревьев.

Установлено, что $lg_{10}K_{50}$ вируса ядерного полидроза для насекомых, выращиваемых на листьях полностью дефолированных в минувшем году деревьев ниже, чем для насекомых, выращиваемых на листьях контрольных деревьев - 6.18 ± 0.08 и 6.51 ± 0.09 соответственно ($P < 0.01$). Это свидетельствует, что чувствительность гусениц непарного шелкопряда к вирусу при развитии на листьях поврежденных деревьев выше, чем при развитии на листьях

неповрежденных деревьев (рис. 2). Этот вывод согласуется с данными, полученными для насекомых из очага в Чановском р-не. Однако при изучении этиологии гибели насекомых в опытах оказалось, что при значительно большей общей гибели инфицированных гусениц, выращиваемых на листьях поврежденных деревьев количество погибших среди них от вирусной моноинфекции существенно ниже, чем среди выращиваемых инфицированных гусениц на листе интактных деревьев.

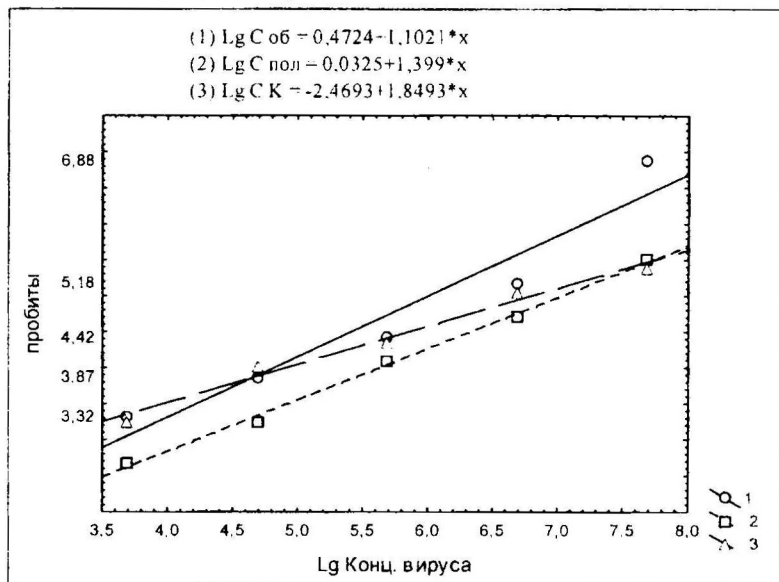


Рис. 2. Смертность инфицированных ВЯП гусениц шелкопряда из очага в Усть-Гарском р-не при выращивании на листе поврежденных и интактных деревьев: 1. Суммарная гибель гусениц на листе поврежденных деревьев; 2. Гибель гусениц, развивающихся на листе поврежденных деревьев от полидроза; 3. То же на листе интактных деревьев.

Поэтому, если проводить анализ чувствительности насекомых к вирусу с учетом этого обстоятельства, то $IgTK_{50}$ вируса для насекомых, выращиваемых на листе totally дефолированных деревьев, оказывается выше, чем для насекомых, выращиваемых на листе интактных деревьев — $6,88 \pm 0,09$ и $6,51 \pm 0,09$ соответственно (рис. 2). Следовательно, чувствительность насекомых, развивающихся на листе поврежденных деревьев, к вирусу ниже по сравнению с насекомыми, развивающимися на листе контрольных деревьев. Объясняется это тем, что гусеницы, развивающиеся на листьях поврежденных деревьев, менее жизнеспособны по сравнению с насекомыми, развивающимися на листьях интактных деревьев. Это подтверждают и результаты наших предыдущих исследований по влиянию дефолиации на жизнеспособность насекомых. Вследствие этого среди них наблюдается значительно более высокая гибель от неспецифических причин, в том числе и от смешанных инфекций, где полидроз не является основной причиной гибели. Микроскопические исследования погибших насекомых выявили, что среди насекомых, выращиваемых на листе поврежденных деревьев, значительно меньше особей, погибших в результате вирусной моноинфекции. Если среди инфицированных ВЯП особей, выращиваемых на листе интактных деревьев, количество погибших от вирусной моноинфекции составило 89,9% то среди особей опытной группы — 34,5%. Остальные гусеницы опытных групп погибли от других причин, в том числе и от смешанных инфекций, где полидроз не был основной причиной гибели. Поэтому, исходя из наших данных, полученных ранее, и из обсуждаемых результатов данного опыта, можно

утверждать, что замедленная индуцированная резистентность деревьев подавляет жизнеспособность насекомых, но при этом увеличивает их резистентность к ВЯП. Об этом свидетельствует и урожай вируса, полученный на гусеницах опытной и контрольной группы при инфицировании их вирусом в 3-ем возрасте. Количество полиэдров в пересчете на 1 гусеницу, погибшую от вирусной инфекции, для насекомых, выращиваемых на листьях дефолиированных деревьев, составило $0,83 \times 10^9 \pm 0,79 \times 10^8$, в то время как аналогичный показатель для насекомых контрольной группы был $1,49 \times 10^9 \pm 1,39 \times 10^9$ полиэдров ($P < 0,05$). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в популяции ВЯП после инфицирования насекомых, выращиваемых на листьях дефолиированных деревьев, наблюдаются изменения вирулентности и репродуктивной активности вируса, оцениваемой по урожайности. Вероятно, эти изменения объясняются падением жизнеспособности насекомых и как следствие изменением чувствительности к вирусу и другим патогенам, а также абиотическим факторам внешней среды.

В 10-летних сосновых культурах на территории Волгоградской обл., подвергшихся в двух предыдущих сезонах сильной и сплошной дефолиации рыжим сосновым пилильщиком, также произошло снижение численности насекомого и изменение показателей жизнеспособности, свидетельствующих о деградации очагов массового размножения. В очагах происходили спонтанные массовые вирусные заболевания с гибелью более половины личинок ($51,2 \pm 2,2$ %). Изреженность крон составила $17,1 \pm 2,4$ %. Гибель коконов насекомого от паразитоидов и хищников достигла $44,7 \pm 3,5$ %. Пораженность насекомых грибной инфекцией составила $1,3 \pm 0,3$ % и не имела достоверных отличий от аналогичного показателя для насекомых из контрольных насаждений. Коэффициент размножения равнялся 0,52, а в контрольных насаждениях -- 1,8 ($P < 0,001$). Таким образом, основным фактором деградации численности рыжего соснового пилильщика была вирусная инфекция и действие паразитоидов и хищников, вызвавших гибель почти половины коконов насекомого. Микоз, как и в популяциях непарного шелкопряда, значимого влияния на численность насекомого не имел. В этом очаге паразитоиды и хищники оказали большое влияние на гибель насекомых, развивающихся в поврежденных насаждениях.

Изменчивость генетической структуры ВЯП в популяциях непарного шелкопряда на различных фазах вспышки массового размножения и уровнях поврежденности кормовых растений

Нами была проведена сравнительная оценка различных механизмов персистенции вируса в организме гусениц непарного шелкопряда и условия ее перехода в острое заболевание в природных популяциях насекомого. В табл. 4 представлены данные, характеризующие состояние нескольких популяций шелкопряда в лесонасаждениях на территории ряда районов Новосибирской области. Показатели "венгеровской, татарской и чановской" популяций близки по величине и типичны для непарного шелкопряда в эруптивной фазе вспышки массового размножения в березняках Западной Сибири. В то же время показатели дефолиации насаждений, заселенности, общей смертности и коэффициента размножения насекомых "кыштовской" популяции существенно отличались от аналогичных показателей других популяций. В первую очередь это относится к уровню общей смертности в ювенильных фазах, последствия которой нашли отражение и в коэффициенте размножения. Смертность насекомых ювенильных фаз развития в этой популяции была значительно выше смертности в других популяциях. Отличалась и этиология их гибели. Практически все насекомые кыштовской популяции погибли от полиэдроза, в то время как у насекомых других популяций спонтанный полиэдроз был причиной гибели лишь небольшой части особей. Вероятно, здесь решающую роль сыграл высокий уровень дефолиации кормовых растений, способствующий максимальной активации скрытой вирусной инфекции. Для всех популяций, за исключением кыштовской, характерна высокая частота обнаружения вирусной ДНК по сравнению с частотой искусственной или спонтанной активации персистирующего вируса (табл. 5). При этом уровень смертности насекомых

Таблица 4.

Основные показатели состояния насаждений и популяций непарного шелкопряда на территории Новосибирской области.

Популяция	Уровень дефолиации насаждений (%)	Количество яйцекладок/га	Общая смертность в юве-нильных фазах (%)	Плодовитость (вес куколок самок) г.	Половой индекс $\chi = \sum \chi/n$	Коэфф. размножения
«венгеро-вская»	50,3±9,6	4001±212	69,1±1,6	0,59±0,08	45,4	0,72
татарская		2997 ± 118	57,3±1,8	0,71± 0,01	48,9	1,01
чановская		3816 ± 104	46,5±1,7	0,69±0,08	41,1	0,89
кыштов-ская	85,4±10,2	5113 ± 305	97,9±0,5	0,67±0,05	39,2	0,05

от индуцированного полидроза, вызванного искусственной активацией вирусной репродукции, для «венгеровской», «татарской» и «чановской» популяций не отличался ($P > 0,05$) от частоты обнаружения антигенов вирионов и полидзров. В то же время смертность от спонтанного полидроза была здесь существенно ниже ($P < 0,05$), чем частота обнаружения вирусных антигенов. Это обстоятельство позволяет предполагать, что в организме насекомых этих

Таблица 5.

Частота выявления ДНК и антигенов вируса (ВЯИ) у насекомых (назв. вида) и их смертность от индуцированного и спонтанного полидроза.

Популяция	Количество (%) положительных ответов при тестировании насекомых на присутствие вирусной ДНК, белков вирионов и полидзров			Смертность от полидроза (%):	
	МГНК (ДНК)	ИФА		Искусственная активация латентной инфекции в лабораторных условиях	Спонтанная вирусная инфекция в природных условиях
«венгеровская»	39,5 ± 7,8	антигены вирионов	антигены полидзров	12,6 ± 3,3	5,8 ± 1,2
«татарская»	28,6 ± 7,2	18,0 ± 6,1	19,5 ± 6,3	17,5 ± 3,8	3,1 ± 0,8
«чановская»	44,7 ± 7,9	38,2 ± 7,7	31,5 ± 7,4	29,4 ± 4,5	10,8 ± 1,5
«кыштовская»	73,2 ± 7,0	37,1 ± 7,7	52,3 ± 7,9	91,5 ± 2,8	93,1 ± 1,2

популяций, где обнаруживались вирусные антигены, вирус персистировал в форме вирионов и полидзров. Вероятно, персистентная инфекция с образованием вирионов и полидзров легко переходит в острое заболевание при воздействии на насекомых факторов, снижающих их резистентность. В случае с индуцированным полидрозом таким фактором была добавка в корм соли железа (FeSO_4). Поэтому при мониторинге популяций непарного шелкопряда частота выявления антигенов вирионов и полидзров может служить критерием прогноза смертности от полидроза в случае воздействия на популяцию экстремальных экологических факторов, одним из которых является качество кормового ресурса. Обращает внимание высокая частота выявления вирусной ДНК, белка вирионов и полидзров у насекомых «кыштовской» популяции, а также, их массовая гибель как от индуцированной, так и от спонтанной вирусной инфекции. Поскольку в других популяциях дефолиация кормовой породы в год исследований было значительно ниже, чем в «кыштовской», уровень активации латентной инфекции у них оказались существенно ниже. Известно, что сильные повреждения кормового растения способствуют снижению резистентности филлофагов и активации у них

вирусной репродукции за счет увеличения у растений количества защитных веществ и снижения питательной ценности корма [Bergman, 1990]. Несмотря на то, что у значительной части гусениц из "венгеровской, татарской и чановской" популяций была обнаружена вирусная ДНК, даже искусственная активация вирусной репродукции не позволила вызвать острое заболевание у такого же количества гусениц. Что же касается спонтанного полиэдроза в этих популяциях, то его показатели в 4 - 8 раз ниже, по сравнению с количеством гусениц, содержащих вирусную ДНК (табл. 5). Таким образом, сравнительно высокий уровень вирусоносительства во всех популяциях, кроме "кыштовской", при отсутствии воздействия на насекомых неблагоприятных кормовых условий, не сопровождался соответствующей смертностью от спонтанного полиэдроза.

В насекомых названных популяций непарного шелкопряда было также проведено изучение взаимосвязи популяционной динамики насекомого и генетического изучения взаимосвязи популяционной динамики насекомого и генетического полиморфизма вируса ядерного полиэдроза. Во всех исследованных популяциях, в которых отбирались образцы материала для изучения вирусного полиморфизма, мы наблюдали характерную для вспышки массового размножения картину популяционной динамики насекомого. Размер каждой из популяций в той или иной фазе вспышки зависел от ряда факторов: таксационных показателей древостоев, погодных условий, особенностей ландшафта и др. Однако у всех популяций отмечен сходный характер динамики численности: 1) фаза роста численности - быстрый рост в течение 2 - 3 лет (коэффициент размножения $\gg 1$, средний вес куколок - самок не менее 0,8 г, смертность в ювенильных фазах не более 40%), 2) эруптивная фаза численности - максимальная численность в течение 1 - 2 лет (коэффициент размножения не более 1,12, средний вес куколок - самок не более 0,6 г, смертность в ювенильных фазах до 70%) и 3) фаза деградации - резкое падение численности в течение 1 - 2 лет (коэффициент размножения $\ll 1$, средний вес куколок-самок не более 0,4 г, смертность в ювенильных фазах не менее 90%). Вспышки массового размножения и рост численности насекомого в насаждениях сопровождался увеличением количества пораженных вирусной инфекцией гусениц и куколок, достигающим максимума в фазе кризиса. По сравнению с фазой роста численности количество погибших насекомых с вирусной этиологией в фазе кризиса увеличивалось более, чем в 30 раз. Возможно, что такой рост смертности шелкопряда от вирусной инфекции обусловлен снижением его резистентности, вследствие чего возрастает интенсивность активации латентной вирусной инфекции [Bergman, 1988; Ильиных и др., 1995]. Подтверждением того, что с развитием вспышки резистентность непарного шелкопряда к ВЯП снижается служат результаты опытов по определению чувствительности непарного шелкопряда к экспериментальному заражению ВЯП в различные фазы популяционного цикла. Исследования показали, что концентрация вируса, вызывающая гибель 50% зараженных гусениц (LK_{50}), была различной и зависела от фазы популяционного цикла. Для гусениц из растущих популяций характерна наиболее высокая LK_{50} ($\lg LK_{50}$ 7.4 ± 0.58), из деградирующих очагов - наиболее низкая ($\lg LK_{50}$ 5.0 ± 0.41 ; $P < 0.01$), т.е. чувствительность шелкопряда к ВЯП в период роста численности была минимальной, в период кризиса - максимальной. В то же время чувствительность шелкопряда к инфекции в фазе депрессии была меньше, чем в фазе кризиса, но выше, чем в двух других фазах вспышки массового размножения.

Образцы ДНК изолятов вируса непарного шелкопряда, выделенные из насекомых, собранных в названных популяциях в различные фазы вспышки, заметно различались по способности к гибридизации с разными олигонуклеотидами (рис. 3). Наиболее высокая гибридизационная активность вирусных ДНК наблюдалась по отношению к зонду Р4, соответствующему высококонсервативному гомологичному району генома вируса - в реакцию вступали 88.8 ± 3.9 % проб. Судя по результатам реакции, этот участок генома вируса присутствует у абсолютного большинства исследованных изолятов. Достоверно ниже ($p < 0.001$) был удельный вес изолятов, гибридизующихся с зондом Р3 (63.2 ± 5.9 %), комплементарным консервативной области гена ДНК-полимеразы вируса, и зондами Р1 и Р2 (54.4 ± 6.1 %), соответствующими вариабельному гену полиэдрина вируса. Мы сравнили гибридизационную активность изолятов с олигонуклеотидными зондами, в зависимости от

фазы вспышки непарного шелкопряда, в который были выделены изоляты, по количеству (%) положительных ответов от максимально возможных в реакции с четырьмя зондами. Анализ показал, что в фазе роста численности насекомого изоляты отличались высокой гибридизационной активностью ($91,6 \pm 7,4$ %) - подавляющее количество изолятов гибридизовалось со всеми зондами, что говорит об их генетической гомогенности. В фазе собственно вспышки и, особенно, деградации численности гибридизационная активность изолятов была достоверно ниже. Положительных ответов здесь получено лишь $52,2 \pm 10,6$ % и $37,1 \pm 8,6$ % ($p < 0,01$; $< 0,001$), соответственно. При этом снижение частоты гибридизации отмечалось, в основном, в реакциях с зондами P1 – P3. По-видимому, изоляты, выделенные в эти периоды цикла насекомого, обладали высокой гетерогенностью, в связи с чем и гибридизовались с меньшим числом зондов. Следует заметить, что, хотя различия в гибридизационной активности между изолятами вируса, выделенными в популяциях с максимальной численностью насекомого и в разрежающихся популяциях, недостоверны ($p > 0,05$), тенденция снижения гибридизационной активности вируса, отражающая увеличение генетического полиморфизма патогена в динамике вспышки массового размножения насекомого, явно прослеживается.

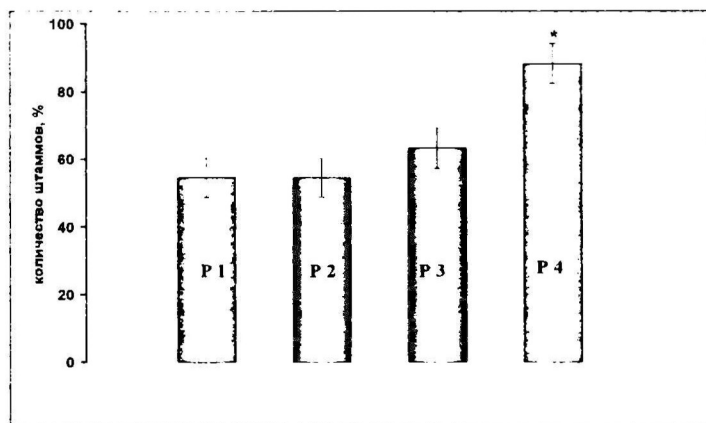


Рис. 3. Гибридуемость ДНК штаммов вируса с олигонуклеотидными зондами (P1-P4) соответствующим различным областям его генома. * - отлчия по активности в сравнении с другими олигонуклеотидами ($P < 0,001$).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о сопряженной изменчивости геномов ВЯП и чувствительности непарного шелкопряда к вирусу, обусловленной фазами вспышки массового размножения насекомого. После достижения популяцией насекомых максимальной численности отмечается достоверное (по сравнению с фазой роста численности) увеличение их чувствительности к вирусу и одновременно снижается гибридизационная активность изолятов ВЯП, что является следствием роста генетического полиморфизма вируса. Такая тенденция сохраняется в динамике вспышки и достигает максимального выражения в фазе ее кризиса. Наиболее вероятным объяснением выявленного феномена следует признать, на наш взгляд, то обстоятельство, что в период роста численности насекомых, когда их жизнеспособность максимальная и, соответственно, максимальна резистентность к патогенам, происходит селекция высоковирулентных штаммов вируса, способных преодолеть резистентность. Подобные высоковирулентные штаммы высокогомогенны по генетической структуре и в наибольшей степени соответствуют эталонному штамму. По мере развития

очагов уменьшаются жизнеспособность насекомых и их резистентность, что сопровождается ростом гетерогенности вирусной популяции за счет увеличения в ее составе количества изолятов с умеренной и низкой вирулентностью. В фазе деградации численности спектр изолятов по вирулентности, по-видимому, достигает максимума, и тем самым генетический полиморфизм вирусной популяции становится максимальным. Эти предположения подтверждаются нашими данными о характере изменения чувствительности насекомых к вирусу - в фазе деградации чувствительность шелкопряда к вирусу достигает максимальных значений. Следовательно, низкая резистентность насекомых в данный период может способствовать распространению среди них изолятов вируса с различной вирулентностью, т.е. росту гетерогенности вирусной популяции, что согласуется с результатами гибридизации.

Полученные результаты указывают на взаимосвязь динамики популяций непарного шелкопряда и вируса ядерного полиэдроза с состоянием кормовых растений. Влияние вирусной инфекции на размер популяций насекомого зависит от их жизнеспособности, связанной с фазами популяционной динамики и уровнем дефолиации растений. что, в свою очередь, обуславливает генетический полиморфизм популяций вируса. Вероятно, в популяциях шелкопряда в каждой из фаз вспышки циркулируют все, выявленные нами, генетически отличающиеся штаммы вируса, однако в фазе роста численности насекомого репродукция вируса подавляется, особенно штаммов с низкой вирулентностью. В фазе кризиса, когда резистентность насекомых резко снижается, спектр и интенсивность репродуцирующихся штаммов увеличиваются и, соответственно, возрастает смертность от вирусной инфекции насекомых. Это свидетельствует о том, что влияние вируса ядерного полиэдроза на размеры популяции непарного шелкопряда определяется не только насыщенностью его популяций вирусом, но и уровнем резистентности насекомых к инфекции.

Влияние дефолиации кормового растения на активность детоксицирующих и антиоксидантных ферментов средней кишки непарного шелкопряда.

Существенное значение в функционировании кишечника насекомых, и, в частности, в их резистентности против патогенов имеют детоксицирующая и антиоксидантная системы. Особенно это выражено при погреблении корма, содержащего большое количество токсических и неусвояемых ксенобиогенов, например аллелохемиков растений (Бахвалов и др., 2005). Последние способны образовывать в кишечнике высокореакционные радикалы. Вероятно, активность этих систем влияет на инфекционность различных патогенов, в том числе вирусов, при их проникновении в кишечник насекомых вместе с кормом, содержащим в высокой концентрации аллелохимики.

В наших исследованиях выращивание инфицированных вирусом и интактных гусениц непарного шелкопряда на листьях, дефолированных деревьев на 75% и 100% приводило к 1,5-2 кратному снижению активности неспецифических эстераз (НЭ) в средней кишке насекомых. При этом в кишечнике гусениц, инфицированных ВЯП, активность эстераз снижалась больше, чем в кишечнике интактных гусениц ($P < 0,05$). Кроме того, у интактных и инфицированных гусениц увеличивалось соотношение $RSSR/RSH$ (отношение окисленных тиолов к восстановленным) и наблюдалось снижение массы гусениц. По - видимому, снижение активности НЭ в среднем кишечнике гусениц происходит в результате того, что при дефолиации березы в ее листе синтезируются ряд вторичных метаболитов, которые оказывают ингибирующее действие на эту группу ферментов. Возможно, совместно с вирусом это действие еще больше усиливается. Имеются работы, свидетельствующие об ингибирующем действии растительных метаболитов на НЭ [Juntheikki, Julkunen-Tiitto, 2000; Mukanganyama et al., 2003]. В результате насекомое в большей степени подвержено воздействию вторичных метаболитов растения вследствие снижения интенсивности процессов их детоксикации.

Ингибирование активности эстераз при питании фитофага на ранее дефолированном растении может иметь практическое значение, поскольку известно, что НЭ ответственны за устойчивость насекомого к некоторым инсектицидам, содержащим эфирные связи [Амирханов, Соколянская, 1992; Ishaaya, 1993; Qiao et al., 1999]. Можно предположить, что

гусеницы непарного шелкопряда, развивающиеся на поврежденных растениях могут быть более чувствительны к действию химических препаратов. Исходя из полученных результатов, мы также не исключаем, что такие гусеницы будут более чувствительны к ВЯП, поскольку совместное действие аллелохимиков и ВЯП приводит, как минимум, к аддитивному эффекту – существенному снижению активности эстераз.

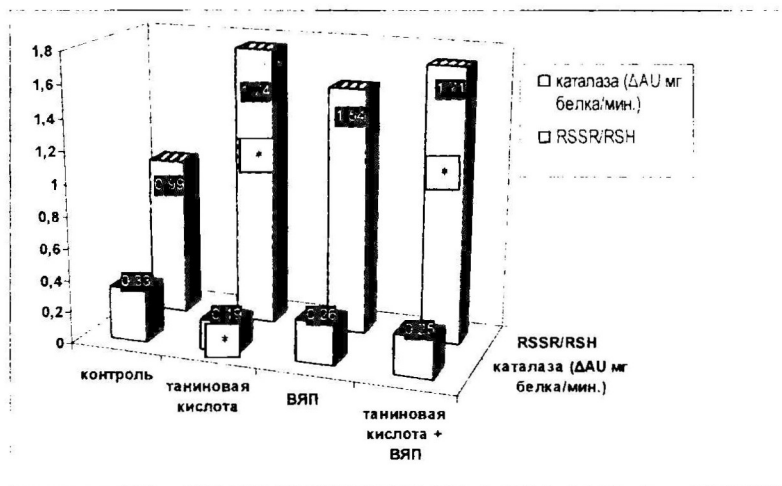


Рис. 4. Соотношение окисленных и восстановленных тиолов (RSSR/RSR) и активность каталазы в кишке инфицированных ВЯП и intactных гусениц, развивающихся на листьях с добавлением таниновой кислоты. * – *дистов. разл.с контролем (P < 0,05)*

Увеличение соотношения RSSR/RSR при развитии инфицированных и intactных гусениц на листьях деревьев, подвергшихся дефолиации, вероятно, является следствием увеличения генерации активных кислородных метаболитов (АКМ) в просвете среднего отдела кишечника насекомого. Это может происходить вследствие изменения состава вторичных метаболитов в тканях дефолированного растения и снижать пригодность растения для фитофага. Так, явление «окислительного стресса» наблюдали в средней кишке непарного шелкопряда при смене предпочитаемого кормового растения (дуб) на менее предпочитаемое растение (акация) [Peric-Mataruga et al., 1997]. Это, по мнению авторов этого исследования, происходило в результате увеличения содержания алкалоидов и флавоноидов в корме. Генерация АКМ в просвете кишечника также может являться причиной снижения активности ИГ в эпителии средней кишки. Снижение активности каталазы и увеличение соотношения окисленных и восстановленных тиолов в средней кишке непарного шелкопряда выявлено нами при выращивании инфицированных и intactных гусениц на листьях, обработанных таниновой кислотой (рис. 4). Это подтверждает предположение о том, что таниновая кислота, содержание которой

увеличивается в листьях березы после дефолиации [Kaitaniemi et al., 1998], может усиливать генерацию АКМ в просвете кишечника насекомого, питающегося лиственной березы. По-видимому, в просвете кишечника в процессе окисления таниновой кислоты образуются промежуточные продукты, которые способны повреждать многие биологические мишени. Вероятно, в результате этого происходит повреждение и вирусных частиц, которые также присутствуют в средней кишке при инфицировании насекомого.

Оценивая полученные результаты можно утверждать, что снижение активности одного из ключевых антиоксидантных ферментов – каталазы, ответственной за общее количество H_2O_2 в межклеточном пространстве организма насекомого, приводит к увеличению количества окисленных тиолов. Как следствие, происходит снижение риска возникновения «окислительного стресса» за счет нейтрализации перекисного окисления липидов и других высокореакционных соединений. Иными словами можно говорить о своеобразном перераспределении «нагрузки» между ферментативными и неферментативными антиоксидантами.

Содержание и динамика аллелохимиков в листе дефолированных деревьев и их влияние на развитие непарного шелкопряда

При исследовании содержания аллелохимиков в листе интактных и поврежденных берёз нами показано, что содержание оксibenзойных кислот и простых полифенолов, уменьшалось в листьях деревьев через год после искусственной дефолиации. В то же время содержание этих аллелохимиков в листьях через 30 суток после искусственной дефолиации и через год после объедания шелкопрядом даже несколько увеличивалось [Шульц и др., 2004; Бахвалов и др., 2006]. Однако продукция этих соединений мало связана с дефолиацией, поскольку они относятся к промежуточным соединениям биосинтеза более сложных структур, поэтому их количество в листе весьма вариабельно [Springob et al., 2003].

Реакция растений на потерю зеленой массы сопровождалась увеличением содержания жирных кислот и жирных спиртов суммарных липидных фракций. Всего в общем липидном экстракте идентифицировано 11 кислот. В листьях деревьев через 1 год после искусственной дефолиации и через 30 суток после объедания шелкопрядом увеличивалось содержание насыщенных кислот. Кроме того, при формировании новых листьев после искусственной дефолиации происходит десатурация жирных кислот, то есть образование новых двойных связей. В листьях растений, подвергающихся естественной дефолиации, высоко содержание короткоцепочных насыщенных жирных, а также триеновых кислот по отношению к контролю [Шульц и др., 2004; Бахвалов и др., 2006]. Можно предположить, что биохимическая адаптация при дефолиации регулируется с помощью синтеза полиненасыщенных кислот, а также за счёт образования жирных кислот с короткой углеродной цепью.

Общее содержание стероидов и тритерпенов составляло 0,35-0,46 %. Основным компонентом фракции стероидов во всех исследованных образцах листьев являлся β -ситостерин, содержание которого в образцах экстрактов растений, подвергшихся дефолиации, снижалось ($P < 0,05$), а главным компонентом тритерпеновых соединений был тритерпен 1. Содержание свободных флавоноидов и флавоноидных гликозидов в листьях не изменялось через 30 суток и уменьшалось через год после искусственных повреждений. Однако через год после объедания деревьев шелкопрядом содержание этих соединений в листе значительно увеличивалось, что коррелировало с падением жизнеспособности насекомых и деградацией численности популяции. Наибольшим содержанием флавоноидов отличались экстракты растений, подвергнутых естественной дефолиации. Общая сумма флавоноидов в экстрактах листьев берёз составляла 2,67-3,47%. Колонной хроматографией экстрактов выделено 6 индивидуальных флавонов, 2 флаванона и флаванонол. Интерес представляет обнаружение и выделение из экстрактов 3-метоксифлавона и 3- гидроксифлаванонла. По данным Запромётова [1993], полиметоксифлавоны относятся к соединениям, делающим растения устойчивыми к патогенным грибам, например к *Penicillium digitatum* и видам *Geotrichum*. Соотношение основных флавоноидов в экстрактах резко различалось. В некоторых образцах увеличивалось содержание флаванонов (до 30-34% от суммы экстрактивных веществ, по сравнению с их содержанием в контрольных образцах ~ 12%). При дефолиации также возрастало содержание флаванонла. Содержание основных флавонов снижалось в растениях, подвергшихся дефолиации (от 60 до 20%).

Отношение флавоноидов к общему содержанию фенольных компонентов варьировало в пределах 7-17 %. Содержание флавоноидов значительно выше ($P < 0,05$) в листьях растений через 1 год после искусственной дефолиации и после повреждения растений шелкопрядом ($P <$

0,01) по сравнению с контролем. Эти результаты представляют интерес в связи данными, приведенными в некоторых работах по содержанию антоцианов, проантоцианидинов и галлотанинов в листьях берез, устойчивых к объеданию насекомыми [Thompson, 1988; Ossipova et al., 2001].

Как мы уже отмечали, различия в динамике аллелохемиков в листьях искусственно дефолированных деревьев и в листьях деревьев, объеденных шелкопрядом в какой-то степени могут быть обусловлены различным характером дефолиации. Искусственная дефолиация производилась в течение 1 - 2-х часов и сразу по всей кроне, в то время как объедание насекомыми происходило в течение примерно 15 дней, причем, сначала насекомые объедали, в основном, верхнюю часть кроны, а затем нижнюю. Кроме того, при объедании листьев (хвон) насекомыми их слюна выступает индуктором биохимических реакций в растениях, продукты которых отрицательно действуют на пищеварение насекомых (Мартемьянов, Бахвалов, 2006).

Основываясь на полученных данных можно предположить, что существует связь между повышенным содержанием флавоноидов в листьях сильно поврежденных деревьев и падением жизнеспособности насекомых, развивающихся на этих деревьях, что способствует уменьшению размеров популяции филлофага. В литературе имеется много весьма неоднозначных сведений о влиянии фенольных соединений, в том числе и флавоноидов, на развитие различных видов насекомых, хотя существенное значение их в резистентности растений признается многими авторами [Foster et al., 1992; Gruppe, 1993; Lyytikäinen, 1994; Roth et al., 1994, 1997; Osier, Lindroth, 1995; Мызатова 2000; Hemming et al., 2001; Lill, et al., 2001; Tikkanen, Julkunen – Tiihto, 2003].

Выявленные нами изменения в содержании вторичных метаболитов происходят в листьях деревьев только через год после их дефолиации. Это свидетельствует, что по изученным нами показателям нам не удалось обнаружить у березы реакцию быстрой индуцированной резистентности, наступающую у деревьев в сезон нанесения повреждений, как об этом сообщают некоторые авторы [Party et al., 2003]. В то же время, реакция замедленной индуцированной резистентности, наступающая на следующий год после нанесения повреждений, выявлена как при искусственной, так и при естественной дефолиации. Многие авторы полагают, что реакция замедленной индуцированной резистентности у деревьев, возможно, имеет репаяющее значение в химической защите растений от насекомых-филлофагов [Kaitaniemi et al., 1998; Party et al., 2003]. Исходя из приведенных выше результатов, свидетельствующих о важной роли некоторых флавоноидов и танинов в резистентности древостоев, мы провели изучение динамики важнейших флавоноидов (флавонолов и катехинов) и танинов в листьях искусственно поврежденных деревьев. В результате было выявлено, что в листьях деревьев полностью дефолированных в предыдущем году, содержание флавонолов не меняется, а танинов хотя и увеличивается, но не достигает достоверных значений (рис. 5). В то же время количество катехинов возрастает. Характерной особенностью является то, что в листьях всех поврежденных деревьев резко возрастает вариабельность содержания всех определяемых фенольных соединений. Так, коэффициент вариации содержания флавонолов в листьях контрольных деревьев составляет 13,8, а в листьях поврежденных - 54,7. При этом размах показателей количества этих веществ в контроле равняется 32,2%, а в опыте - 101%. Соответствующие показатели для катехинов составляют 10,8 и 26,0, размах 35,5% и 135,6%, а для танинов 20,4 и 32,7 при размахе 41,5% и 137,5%.

Таким образом, полная дефолиация березовых древостоев вызывает повышение количества катехинов в листьях и резко увеличивает вариабельность в содержании

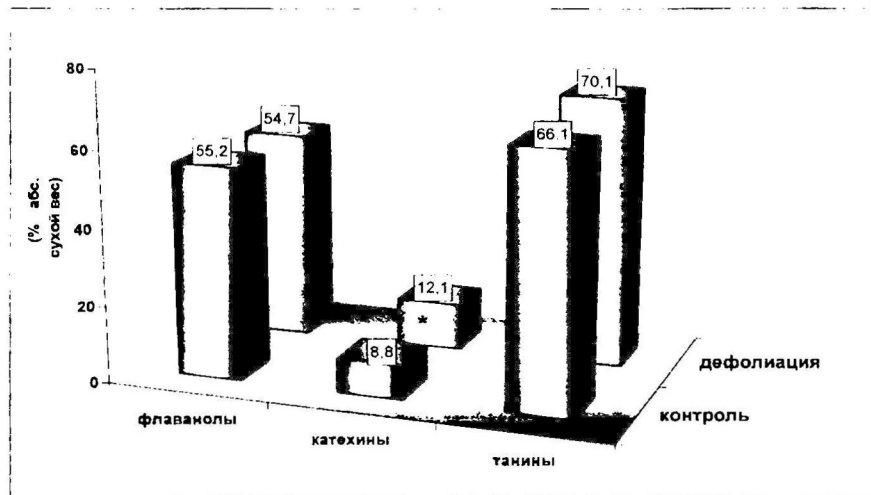


Рис. 5. Содержание флавоноидов и танинов в листьях дефолиированных и интактных деревьев
*—различия в опыте и контроле достоверны для $P < 0,05$

флавонолов, катехинов и танинов в листьях поврежденных деревьев, что свидетельствует о значительных индивидуальных различиях в реакции деревьев на дефолиацию.

Взаимоотношения в системе: «растение-насекомое-вирус» и возможности их использования в регуляции численности насекомых

Широкие исследования вирусов насекомых и, в частности, бакуловирусов, начавшиеся во всем мире в середине прошлого столетия, были обусловлены, главным образом, перспективами применения этих патогенов для управления численностью массовых видов насекомых [Штейнхауз 1952; Bird, 1964; Smith, 1967; Stairs, 1973; Falcon, 1976].

Высокая специфичность, сравнительно низкие дозы применения и высокая биологическая эффективность вирусных энтомопатогенных препаратов представлялись на начальных этапах их применения несомненной гарантией блестящих перспектив [Tanada, 1959; Гулий, Голосова, 1975; Воробьева, 1976; Payne, 1982; Entwistle, Evans, 1985].

Один из первых отечественных вирусных препаратов: «Вирин-Диприон», созданный на основе ВЯИ кишечного типа уже в течение нескольких десятилетий является высокоэффективным и наиболее востребованным вирусным препаратом в лесозащите России. Однако, как показал опыт, дозы этого препарата, регламентированные техническими условиями при его регистрации часто оказывались недостаточными для эффективного подавления популяций рыжего соснового пилильщика [Бахвалов, Жимеркин, 2003].

Исследования показали, что в экспериментальных условиях обработка хвои сосны дозой препарата, эквивалентной 10 мл/га, вызывает гибель 50% личинок пилильщика 1-2 возраста на 5-6 день (ЛТ₅₀), а 90% — на 8 - 9 день. Защитный эффект по объеданию крон при внесении такой дозы в насаждения очень высокий — потери хвои не превышают 10%, при уровне заселенности насаждений насекомыми способными вызвать сильное (не менее 75%), или сплошное (до 100%) объедание. Эти данные подтверждают ранее полученные результаты, на основе которых и были разработаны рекомендации по дозировке препарата при обработках заселенных пилильщиком лесонасаждений. Если же обработку корма указанной дозой проводить во 2 - 3 - м возрастах личинок, то гибель 50% насекомых происходит только на 9 - 10 день, а 90% на 13-14 день. Потери хвои в очагах массового размножения насекомого при аналогичной заселенности и обработке их названной дозой препарата составляют уже 30 - 40%. Обработка

насаждений с высокой заселенностью пилильщика (не менее 75% дефолиации) дозой 10 мл/га в 3 – 4 – м возрастах личинок по – существу уже бесполезна, поскольку в этом случае потери ассимиляционного аппарата растениями в очагах близки к потерям в необработанных насаждениях. Только в первых двух возрастах личинок ЛК₅₀ препарата ниже рекомендуемой для обработок дозы в 10 мл/га, а ЛТ₅₀ составляет несколько дней. Начиная с 3-го возраста чувствительность насекомых к препарату резко снижается и в последних двух возрастах она уже более, чем в 50 раз ниже, чем в первых двух. Соответственно увеличивается и ЛТ₅₀. Если при обработке корма в период, когда личинки находятся в 1-2 возрасте, этот показатель составляет 5,8 дня, то при обработке в период, когда личинки находятся в 3 – 4 возрасте, он равняется 10,4 дня, а ЛК₅₀ препарата увеличивается почти в 10 раз. Опыт свидетельствует также, что обработка насаждений против лесных насекомых, и, в частности, против рыжего соснового пилильщика в нашей стране проводится в эруптивной фазе вспышки насекомого, когда вероятность достижения удовлетворительных результатов защитных мероприятий снижается. Повышение дозы препарата, вносимого на единицу площади, в этом случае также способствует получению более надежного защитного эффекта. В то же время анализ литературы показывает, что проведение обработок лесных насаждений, заселенных вредителями на средних и низких уровнях численности, привлекает все больше сторонников среди специалистов по защите леса [Podgwaite et al., 1993; Reardon, Podgwaite, 1994]. Такие обработки позволяют предотвратить расширение очагов массового размножения насекомых или прекратить вспышку численности, а в случае неудовлетворительной эффективности наносимые насаждениям повреждения не являются катастрофическими. И хотя из-за более низкой чувствительности насекомых к инсектицидам, особенно биологическим, в продромальной фазе вспышки удельный расход препаратов увеличивается, в конечном счете, он ниже, чем при обработках очагов в эруптивной фазе вспышки численности. Наряду с тенденцией к подавлению численности популяций вредителей на низких и средних уровнях численности в зарубежных странах отмечается тенденция по увеличению доз вирусных препаратов, вносимых в насаждения [Cunningham et al., 1993; Forti, Joriatti, 1988; Gelemeret et al., 1986; Glowacka – Pilot, 1986; Podgwaite et al., 1993; Reardon, Podgwaite, 1994]. Эти тенденции, по нашему мнению, отражают новый подход к биологической защите леса вирусными препаратами. Начиная с 80-х годов, рекомендуемые дозы для обработок лесонасаждений вирусными препаратами в мировой практике выросли по-сравнению с 60 – 70- ми годами прошлого века примерно в 10 раз. Связано это с рядом причин, в том числе и с теми, о которых шла речь выше, а также с тем, что не оправдались надежды на широкое развитие эпизоотий насекомых после обработок насаждений вирусными препаратами. В большинстве случаев вирусные препараты действуют как обычные инсектициды, т. е. в обработанных препаратом насаждениях гибнут только те особи, которые были инфицированы внесенным патогеном. Инфицирование насекомых новым поколением вируса, как показывают исследования, не имеет существенного значения для их популяций в год проведения защитных мероприятий.

Таким образом, полученные нами данные, как и результаты исследований других авторов, свидетельствуют, что обработка сосняков против рыжего соснового пилильщика при его численности способной вызвать не более 50% повреждений в период нахождения большинства личинок во втором и третьем возрастах, может быть рекомендована, как наиболее оптимальная. Поскольку в этот период популяционного цикла насекомые более устойчивы против патогенов, чем в конце эруптивной фазы вспышки, то рекомендуемое нами повышение дозы до 50 мл на 1 га также необходимо для преодоления этой устойчивости. Несмотря на повышение затрат на проведение защитных мероприятий в связи с рекомендуемым увеличением дозы вирусного препарата их стоимость лишь приблизится к стоимости обработок очагов притроидными препаратами. Реализация представленных рекомендаций по применению вирусного препарата «Вирион – Дирион» в известной мере означает новый подход к применению вирусного препарата и будет способствовать повышению эффективности защиты сосняков против рыжего соснового пилильщика.

Биопрепараты, созданные на основе бакуловирусов, вызывающих генерализованные

инфекции. оказались менее эффективными, хотя в ряде случаев они успешно использовались для снижения численности популяций шелкопряда-монашенки и сибирского шелкопряда [Барановский, 1989; Бахвалов, 1995]. Главные их недостатки – сравнительно низкая вирулентность вирусов, на основе которых созданы препараты, и длительный инкубационный период инфекции, вследствие чего насекомые успевают до гибели нанести существенные повреждения древостоям. Преодоление этих недостатков возможно посредством многократного увеличения дозы вносимого в насаждения препарата, что влечет за собой такое же увеличение стоимости препарата и, соответственно, защитных мероприятий. Однако высокая стоимость препаратов делает их нерентабельными [Viral insect... 1989; Moscardi, 1999]. Кроме того, оказались несостоятельными надежды на быструю инициацию массовых эпизоотий в популяциях фитофагов после внесения вирусных и других микробиологических препаратов в отдельные участки насаждений, заселенных вредителями. Создание искусственных эпизоотий считалось важнейшим достоинством и наиболее перспективным направлением в применении микробиопрепаратов [Талалаев, 1958 б, 1965; Tanada, 1959; Орловская, 1961; Ворончихина, Полтев, 1964; Гулий, Колосова, 1975; Воробьева, 1976; Ignoffo, 1978; Гулий и др., 1982; Huber, 1988]. Однако с развитием биологических методов защиты растений эти надежды, как и некоторые другие перспективы применения биопрепаратов, не оправдались. Частые случаи низкой эффективности применения микробиопрепаратов, особенно препаратов на основе бакуловирусов генерализованного типа, вызывали справедливые нарекания практиков и порождали недоверие к этим препаратам. Уровень горизонтальной передачи вирусов в популяциях насекомых не обеспечивал ожидаемого возникновения эпизоотий в сопредельных с обработанными препаратами участках насаждений в сезон обработки, поэтому необходима была тотальная обработка заселенных филофагами массивов. Кроме того, теоретически обоснованные дозы препаратов, вносимых на единицу площади, оказались в большинстве случаев заниженными. Опыт показал, что дозы должны быть значительно увеличены. Так, например, согласно инструкции по применению вирусного препарата Вирин – ЭНП, на 1 га насаждений необходимо было вносить 100 г препарата (10^{11} полиэдров вируса). Фактически для достижения нужной эффективности эту дозу нужно увеличить не менее, чем в десять раз [Бахвалов и др., 1999]. Например, в США препарат: «Джипчек, аналогичный препарату: «Вирин-ЭНП» рекомендуется использовать в дозе $1,25 \times 10^{12}$ пол./га [Cunningham, 1995]. Вполне закономерно, что повышение доз резко увеличивало стоимость обработок.

Одной из причин критического отношения к вирусным препаратам являлась их высокая видоспецифичность. В данном случае экологическая безопасность сталкивается с экономическими интересами. Экономически более выгодно использовать биологические или химические инсектициды, обладающие широким спектром действия. Все это привело к тому, что, начиная с середины 80-х гг. прошлого столетия, оптимизм, связанный с использованием вирусных энтомопатогенных препаратов, сменился определенным пессимизмом, повлекшим за собой снижение объемов производства и применения вирусных препаратов в ряде экономически развитых стран мира, в том числе и в России [Payne, 1989; Viral insecticides... 1989; Бахвалов, 1995]. Поэтому, несмотря на определенные успехи в использовании вирусных препаратов в защите леса, на современном этапе развития теории и практики управления численностью популяций лесных филофагов требуется значительно повысить качество препаратов и стратегию их применения.

Перспективы использования биопрепаратов, в том числе и вирусных, для управления численностью насекомых в современных условиях неоднократно обсуждались в литературе, и уже сделаны практические шаги по качественному улучшению производимых вирусных препаратов и их применению в ряде зарубежных стран [Webb et al., 1999; Lacey et al., 2001; Okuno et al., 2003]. Повышение эффективности биопрепаратов должно осуществляться по нескольким направлениям. Одним из таких направлений является работа со штаммами вирусов, на основе которых создаются препараты. Необходим постоянный поиск в естественных популяциях насекомых штаммов вирусов с высокой вирулентностью, которые в течение некоторого времени способны сохранять эту вирулентность при наработке на их

основе препаратов. За рубежом уже давно исследуется возможность использования в биопрепаратах рекомбинантных бакуловирусов, способных существенно увеличить эффективность препаратов [Vlak, 1988; Wood, Hughes, 1996; Posse et al., 1997; Hails et al., 2002]. В ряде случаев, рекомбинантные бакуловирусы значительно уменьшали время наступления гибели, устраняя такой недостаток их применения, как длительный латентный период [Moscardi, 1999]. Обнадёживающие результаты получены при полевых испытаниях генетически модифицированного ВЯП против непарного шелкопряда [D'Amico et al., 1999]. Ещё одним направлением повышения эффективности биопрепаратов является радикальное улучшение рецептурной формулы создаваемых препаратов за счет введения различных адъювантов (усилителей эффективности препаратов). В обеспечении биологической эффективности препарата его состав имеет не меньшее значение, чем вирулентность патогена, являющегося основой препарата. Помимо вируса в состав препарата вводятся протекторы, защищающие вирус от УФ-радиации, прилипатели, обеспечивающие его фиксацию на поверхности обрабатываемого субстрата, фагостимуляторы, способствующие более полному и быстрому поеданию инфицированного субстрата насекомыми. УФ-радиация – самый мощный фактор инактивации бакуловирусов. В последние годы в качестве протекторов от УФ-лучей стали использовать так называемые оптические просветлители – стилбеновые соединения (Tinopal, Blankophor, Leucophor, Phorwite и др.) [Webb et al., 1996; Shapiro, Argauer, 1997; Li, Otvos, 1999; Monobrullah, 2003]. Эти соединения поглощают энергию УФ-света, обеспечивая защиту бакуловирусов от разрушения. Добавление Leucophor BS (BSB), Phorwite AR (RKH) и Tinopal LPW к ВЯП непарного шелкопряда обеспечило снижение ЛК₅₀ на три порядка, а ЛТ₅₀ в два раза [Shapiro, Robertson, 1992]. В качестве адъювантов могут выступать ингредиенты, способствующие увеличению проницаемости клеточных мембран насекомых для вируса. Примером может служить диметилсульфоксид (ДМСО), добавление которого к бакуловирусам увеличивало их активность [Штерншис, 1995]. Показана перспективность введения фермента хитиназы в вирусные препараты на основе ВГ и ВЯП [Штерншис, 2001]. Фермент разрушает хитин перитрофической мембраны, усиливая проникновение вируса. При добавлении хитиназы к ВЯП непарного шелкопряда американские ученые наблюдали снижение ЛК₅₀ [Shapiro et al., 1987]. Проводятся испытания по введению в вирусные препараты соединений, ингибирующих транспорт анионов и катионов, а также ингибиторов активности карбоангидраз в клетках тест-насекомых [Shapiro, 2001, 2002]. Некоторые из этих соединений повышали вирусную активность, существенно уменьшая ЛК₅₀ вируса, что дает возможность рассматривать их как потенциальных усилителей эффективности вирусных препаратов.

Как показали наши исследования, весьма перспективным направлением в повышении эффективности вирусных препаратов может стать введение в их состав соединений растительного происхождения, участвующих в естественных механизмах, обуславливающих устойчивость растений к насекомым. В первую очередь это аллелохимики, действующие на насекомых как токсины, антифиданты и антинутриенты. Среди них важнейшее значение принадлежит фенольным соединениям и алкалоидам [Запрометов, 1993; Felton, Gitchouse, 1996; Kaitaniemi, et al., 1998; Bernays E.A., Chapman, 2000]. В наших опытах по выращиванию непарного шелкопряда на листьях березы, обработанной ВЯП и растительными экстрактами из оленьего мха (*Cladonia*) и других растений, содержащих фенольные соединения в концентрации 0,1%, установлено снижение массы гусениц и куколок, уменьшение количества самок, увеличение общей смертности насекомых и их смертности от голода. Это согласуется с данными по повышению активности ВЯП непарного шелкопряда при добавлении растительного экстракта, содержащего тритерпеновые соединения [Cook et al., 1996]. Важным направлением в улучшении эффективности биопрепаратов следует признать совместное применение нескольких энтопатогенных препаратов, главным образом вирусных и бактериальных [Schonherr, Ketterer, 1979; Novotny, 1988; Барановский, 1989; Кизиря, 1992; Langenbruch, 1994; Payne et al., 1996]. Возможно, что создание комплексного биопрепарата на основе нескольких микроорганизмов окажется перспективным направлением использования энтопатогенных вирусов для управления численностью лесных насекомых. Внимание исследователей при создании таких препаратов, по нашему мнению, должно быть

сосредоточено в первую очередь на изучении возможности интерференции действия микроорганизмов и соотношении их доз в препарате. Наконец, необходимы существенные изменения в стратегии и технологии применения вирусных препаратов. Исследования многих авторов за рубежом свидетельствуют, что наиболее эффективным способом применения биопрепаратов является их использование в системе интегрированной защиты леса [Франц, Криг, 1984; Ahmed, Leather, 1994; Goyer, 1991; Langenbruch, 1994; Otvos, Shepherd, 1991; Battu et al., 2002]. Интегрированные системы направлены на максимальное использование естественных регулирующих механизмов лесных экосистем совместно с различными искусственными формами управления численностью одного вида насекомого или их комплекса. Одним из важных условий внедрения интегрированных систем управления численностью лесных насекомых является постоянный мониторинг видов, способных давать вспышки массового размножения. К сожалению, в лесном хозяйстве России разработка этих систем, практически не проводится. Однако стратегия применения вирусных препаратов и в интегрированных системах также должна меняться. Сущность изменений в применении энтомопатогенных вирусных препаратов заключается в дифференцированном подходе к подавлению ими различных популяций вредителей. Рекомендуемые сейчас дозы внесения биопрепаратов в насаждения являются стабильными и определяются ТУ при их регистрации. Таким образом, количество вносимого патогена в очаги массового размножения вредителей независимо от фазы развития очага и плотности насекомых в нем остается постоянным на протяжении всего периода применения препарата. Между тем нами и другими исследователями показана высокая вариабельность чувствительности насекомых на различных фазах популяционного цикла к патогенам, в том числе и к вирусам [Бахвалов, 1989; 1992; Марченко, Емельяничик, 1981]. Следовательно, дозы биопрепаратов необходимо корректировать в зависимости от фазы развития очага размножения насекомого. В начальный период развития очага массового размножения чувствительность насекомых к инсектицидам, особенно биологическим, гораздо ниже, чем позднее, поэтому при подавлении таких очагов дозы препаратов должны быть увеличены. Так, например, для непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки разница в чувствительности гусениц 2-го возраста к вирусу ядерного полиедра в продормальной фазе вспышки и в конце эруптивной фазы достигает двух порядков [Бахвалов, 1995]. Обычно рекомендуемые дозы внесения отечественных препаратов в насаждения ориентированы на субкритическую, или критическую плотность насекомых, что соответствует, примерно, середине эруптивной фазы вспышки, когда угроза повреждения древостоев составляет 50 – 75%. Поэтому, при необходимости подавления очагов в начальный период их развития дозу препарата необходимо увеличивать в несколько раз. В развитых странах Европы и Америки подавление популяций лесных филлофагов обычно начинается на ранних стадиях формирования очагов массового размножения, когда угроза повреждений сравнительно невысокая [Cunningham, 1982; Otvos, Shepherd, 1991; Cunningham et al., 1997]. По принятой в нашей стране шкале развития вспышек массового размножения это соответствует примерно второй половине продормальной фазы вспышки. В нашей лесозащитной практике обычным является проведение лесозащитных мероприятий в начале и середине, а нередко и в конце фазы собственно вспышки и даже в фазе деградации очагов массового размножения.

Проведенные нами исследования в нескольких популяциях непарного шелкопряда и рыжего соснового пилильщика показывают, что подавление очагов массового размножения насекомых вирусными препаратами может быть успешным в самом начале их формирования. Главным условием этого является необходимость увеличения обычно применяемых доз препаратов не менее, чем в десять раз. Несмотря на это, стоимость защитных мероприятий за счет небольших площадей формирующихся очагов ниже, чем подавление уже сформировавшихся очагов. По сути, речь идет о профилактических защитных мероприятиях. Мы проводили подавление зарождающихся очагов вредителей вирусными препаратами в период, когда уровень вероятных повреждений древостоев насекомыми не превышал 15-20%. Очаги непарного шелкопряда в естественных березняках Новосибирской области были обработаны препаратом: «Вирин-III», а очаги рыжего соснового пилильщика в искусственных сосняках Волгоградской и Ростовской областей - препаратом: «Вирин-

Диприон». При проведении обработок насаждений, заселенных непарным шелкопрядом, абсолютное большинство яйцекладок обрабатывалась вирусным препаратом. В табл. 6 представлены полученные в этих опытах результаты. На двух участках, куда вносился Вирин – НШ в дозе $1,9 \times 10^{12}$ пол./га. не произошло снижения численности шелкопряда. В ювенильных фазах развития наблюдался низкий уровень гибели насекомых от полидроза и других причин, не превышающий 33,2%. Осенний учет по яйцекладкам показал, что количество яйцекладок на этих участках выросло в несколько раз.

Таблица 6

Динамика численности насекомых в насаждениях после их обработки вирусными препаратами

Насекомое //фаза развития в период обработки	Препарат //доза (га)	Плотность насеко- мых перед обра- боткой (яйцекладок или гнезд на 1 га) $\times 10^2$	№№ уча- ст- ков	Количество препарата полид/га)	Плотность насеко- мых после обрабо- тки(яйцекладок или гнезд на 1 га) $\times 10^2$	Коэффициент размножения
Непарный шелкопряд // яйца	Вирин- НШ // 45	$4,01 \pm 0,37$	1	$1,9 \times 10^{12}$	$13,8 \pm 0,83$	3,44
		$3,94 \pm 0,36$	2	$1,9 \times 10^{12}$	$12,3 \pm 0,90$	3,12
		$5,81 \pm 0,44$	3	$5,7 \times 10^{12}$	$2,4 \pm 0,26$	0,41
		$5,66 \pm 0,39$	4	$5,7 \times 10^{12}$	$3,0 \pm 0,12$	0,53
	Конт роль//12	$3,97 \pm 0,32$	5	-	$11,9 \pm 0,72$	2,99
Рыжий сосновый пилильщик //личинки	Вирин- Диприон //74	$3,90 \pm 0,41$	1	$1,0 \times 10^{11}$	$1,34 \pm 0,14$	0,34
		$3,66 \pm 0,29$	2	$1,0 \times 10^{11}$	$1,10 \pm 0,19$	0,30
		$4,09 \pm 0,31$	3	$5,0 \times 10^{11}$	$1,42 \pm 0,11$	0,34
		$4,12 \pm 0,40$	4	$5,0 \times 10^{11}$	$0,98 \pm 0,08$	0,23
	Конт роль//16	$4,16 \pm 0,23$	5	-	$12,0 \pm 0,88$	2,88

Такой же рост наблюдался и в контрольных насаждениях. Это свидетельствовало о том, что обработка этих участков вирусным препаратом не предотвратила вспышку размножения насекомого. На двух других участках, где доза вносимого в насаждения «Вирин-НШ» была в несколько раз выше, гибель гусениц и куколок от полидроза и других причин составила в 67,8% при крайних значениях 49,7% и 71,4%, а количество яйцекладок значительно уменьшилось. На всех участках насаждений, обработанных «Вирин – Диприон», произошло существенное снижение численности насекомого. Гибель личинок пилильщика от полидроза составила, в среднем, 72,5%, при крайних значениях 58,6% и 84,7%. На контрольном участке плотность насекомых выросла в несколько раз.

Таким образом, опыты по подавлению формирующихся очагов массового размножения непарного шелкопряда и рыжего соснового пилильщика показали принципиальную возможность их подавления вирусными препаратами. Следует, однако, иметь в виду, что вирусные препараты против одного вида филофага, по-видимому, могут показывать различную эффективность в отношении различных популяций этого насекомого. Об этом свидетельствуют результаты наших исследований по определению восприимчивости насекомых из различных популяций к одному штамму вируса, которые приведены выше.

Для проверки этого предположения мы совместно с американскими коллегами провели сравнительное изучение биологической активности созданного нами вирусного препарата: «Вирин-НШ» против непарного шелкопряда и американского препарата: «Джипчек» (Gyrcheck).

в течение многих лет применяемого для подавления численности этого насекомого [Podgwaite, Mazzone, 1981; Campbell, 1983; Podgwaite et al., 1992 а, б; Ahmed, Leather, 1994; Reardon, Podgwaite, 1994; 1999; Lacey et al., 2001; Гниненко, Матусевич, 2001; Ильных и др., 2004; Бахвалов и др., 2005]. Эти исследования имеют большое значение, поскольку непарный шелкопряд сейчас наиболее распространенный и опасный в Евразии и Северной Америке дефолиатор лиственных и хвойных лесов. Применение вирусных и других биопрепаратов против него зачастую малоэффективно в одних насаждениях и эффективно в других. Причинами этого могут быть различия в физиологическом состоянии насекомых обусловленные резистентностью насаждений, или различия в биологической активности штаммов патогенов, являющихся основой препаратов по отношению к различным популяциям насекомого. Поэтому панзоотические вспышки массового размножения непарного шелкопряда, наблюдающиеся в последние четверть века в Европе, Азии и Северной Америке, существенно обострили внимание к вопросу управления численностью популяций этого фитофага [Heinrichs, 1982; Liebhold et al., 1992; Бахвалов и др., 2002]. Так, по нашим данным, только на территории Западной Сибири в течение последних двух десятилетий очаги массового размножения непарного шелкопряда ежегодно действовали, в среднем, на площади около 85 тыс. га. В некоторые годы их площадь составляла несколько сотен тысяч га. Средняя площадь очагов непарного шелкопряда на территории России в этот период ежегодно приближалась к одному миллиону га [Гниненко, Матусевич, 2001]. В США в 1982 г. только в штате Пенсильвания непарный шелкопряд вызвал полную дефолиацию лесных массивов на площади около 800 тысяч га [Heinrichs, 1982].

Штаммы вируса ядерного полиэдроза (ВЯП), на основе которых производятся «Джипчек» и «Вирин-НШ», выделены из популяций насекомых в различных географических зонах [Podgwaite, Mazzone, 1981; Podgwaite, 1999; Ильных и др., 2004]. Рядом исследователей показана гетерогенность бакуловирусов по вирулентности, обусловленная географической разобщенностью популяций насекомых, из которых они были выделены [Skatulla, 1987; Novotny, 1988; Somasekar et al., 1993; Горбунова и др., 1997]. Это обстоятельство служит основанием для постоянного поиска и введения в препараты новых штаммов вирусов.

Данные, приведенные в таблице 7, свидетельствуют о различной активности каждого вирусного препарата по отношению к насекомым всех тестируемых популяций. Исключение составляет только активность «Вирин-НШ» и «Джипчек» в отношении «татарской» популяции шелкопряда ($P > 0,05$). Однако эти препараты показали различную активность при испытании на северо-американской популяции (линия F_{56}). Показатель LD_{50} препарата «Джипчек» для этой популяции был существенно ниже ($P < 0,001$) по сравнению с показателем LD_{50} для «Вирин-НШ», что свидетельствует о более высокой вирулентности «Джипчек» для аборигенной популяции. Установлено, что чувствительность гусениц алтайской популяции достоверно выше ($P < 0,05$) к препарату «Вирин-НШ» по сравнению с чувствительностью насекомых из «татарской» популяции по отношению к этому же препарату (табл. 7). Особое внимание заслуживает тот факт, что насекомые линии F_{56} , выращиваемые на ИПС, почти на порядок чувствительнее к испытанным вирусным препаратам по сравнению с насекомыми «татарской» и «алтайской» популяций, развивающимися на естественном корме. Вероятно, данный эффект обусловлен более высокой резистентностью гусениц шелкопряда, развивающихся на естественном корме, по сравнению с лабораторной линией насекомых. Группой американских авторов показано значительное влияние режима питания гусениц непарного шелкопряда на его чувствительность к вирусу ядерного полиэдроза [Keating et al., 1989]. Выявлена также более высокая устойчивость к вирусу насекомых, выращиваемых на естественном корме, по сравнению с насекомыми, выращиваемыми на ИПС [Baugher, Yendol, 1981; Watanabe et al., 1989].

Полученные результаты показывают, что тестируемые вирусные препараты различаются по биологической активности по отношению к насекомым из всех трех изученных популяций. Эти данные согласуются с данными других авторов, которые мы приводили выше, по гетерогенности биологической активности бакуловирусов в отношении насекомых из

различных географических областей [Skatulla, 1987; Novotny, 1988; Somasekar et al., 1993; Горбунова и др., 1997].

Используемая нами методика инфицирования насекомых листьями, обработанными препаратом и размещенными на фиксированной площади (для «татарской» и «алтайской» популяций), позволяет приблизительно оценить количество препарата необходимое для подавления популяции шелкопряда в естественных условиях. Показатель LD_{50} для «Вирин-НШ», полученный нами на западно-сибирских популяциях, в пересчете на 1 га составляет для «татарской» популяции $2,0 \times 10^{10}$, а для «алтайской» популяции- $1,07 \times 10^{10}$ полиэдров. Поскольку в модельном инфицировании обрабатывали только один слой листьев, а высота кроны березы в условиях Сибири составляет несколько метров, то для достижения смертности насекомых равной 50 %, полученный показатель LD_{50} необходимо увеличить не менее, чем в 50-70 раз. По нашим данным, для подавления популяции непарного шелкопряда вирусным препаратом необходимо достижение эффективности не менее, чем 70%, поэтому количество вирусного препарата следует еще увеличить на 30-40%. Таким образом, полученные в настоящем исследовании данные позволяют заключить, что для подавления очагов размножения шелкопряда необходимо вносить на 1 га насаждений не менее $1,5 - 2 \times 10^{12}$ полиэдров вируса или 375 – 500 мл препарата «Вирин-НШ» с титром 4×10^9 полиэдров/мл. Исходя из того, что титр препарата «Джипчек» составляет $3,02 \times 10^{11}$ полиэдров/грамм, эти показатели будут, соответственно, $1,72 \times 10^{12}$ полиэдров вируса, или 57 грамм вирусного препарата. Исследования ряда авторов, как и наши работы, показывают, что, примерно, это

Таблица 7

Биологическая активность вирусных препаратов для гусениц непарного шелкопряда из различных популяций.

№	Популяция (линия) насекомого	Препарат	$lgLD_{50}$	LD_{50} вируса (к-во полиэдров)	Уровень достоверности
1	«татарская»	а Вирин НШ	$5,70 \pm 0,09$	$5,02 \times 10^5$	$P > 0,05$ (16) $P < 0,05$ (2a)
		б Джипчек	$5,73 \pm 0,09$	$5,12 \times 10^5$	$P < 0,05$ (2a)
2	«алтайская»	а Вирин- НШ	$5,43 \pm 0,09$	$2,69 \times 10^5$	$P < 0,05$ (1a)
3	F-56 (северо-американская)	а Вирин НШ	$4,74 \pm 0,06$	$5,49 \times 10^4$	$P < 0,01$ (36) $P < 0,001$ (1a)
		б Джипчек	$4,38 \pm 0,07$	$2,39 \times 10^4$	$P < 0,01$ (3a) $P < 0,001$ (16)

количество полиэдров бакуловирусов в различных препаратах с высокой вероятностью гарантирует необходимый защитный эффект лесонасаждений [Forti, Joriatti, 1988; Cunningham et al., 1993; Podgwaite et al., 1992 а, б; Podgwaite et al., 1993; Бахвалов и др., 2005]. Существенные изменения в стратегии применения вирусных препаратов необходимы и в технологии их внесения в насаждения. В настоящее время в лесозащитной практике России используются, в основном, наземные опрыскиватели устаревших конструкций, различные аэрозольные генераторы и редко авиационные опрыскиватели. Наземное опрыскивание возможно только в питомниках или искусственных молодняках, где есть свободные зоны для прохода опрыскивателя, а высота деревьев не превышает несколько метров. Поэтому во всей системе лесозащиты наземное опрыскивание занимает весьма скромное место и перспективы у него такие же. На значительных площадях лесных массивов, заселенных филофагами, внесение биопрепаратов, как и химических инсектицидов, проводится с помощью аэрозольной технологии. К сожалению, эта технология пока не обеспечивает приемлемый уровень подавления популяций лесных насекомых биопрепаратами [Бахвалов, 1995]. В первую очередь, необходимо создание новых конструкций аэрозольных генераторов, способных выносить аэрозольное облако на высоту крон древостоев, чтобы его распространение обеспечивало приемлемую ширину захвата. Однако даже в этом случае применение аэрозольной технологии может быть эффективным только в лесах с хорошей сетью дорог, пригодных для прохождения аэрозольного генератора. Подавляющее большинство лесных

массивов России такой сети дорог не имеют и поэтому применение в них аэрозольной технологии малоэффективно [Бахвалов, 1995]. Что же касается авиационного опрыскивания, то необходимо широкое развертывание современной технологии обработок – ультрамалоземное опрыскивание (УМО) с использованием спутниковой навигации. Применение этой технологии для защиты биопрепаратами более полумиллиона га таежных лесов от сибирского шелкопряда в середине последнего десятилетия прошлого столетия позволило подавить очаги насекомого при внесении 3 л биопрепарата на 1 га [Ю. П. Кондаков, личное сообщение]. В то же время с помощью обычной опрыскивающей аппаратуры, применяемой при обработках леса, расходуется от 30 до 50 л рабочей суспензии биопрепаратов на 1 га насаждений [Справочник ..., 1980]. Естественно, что материальные затраты при таких обработках существенно выше, чем при обработках насаждений с использованием технологии УМО.

Заключение

Представленные результаты исследований указывают на взаимосвязь онтогенеза и динамики популяций непарного шелкопряда, шелкопряда-монашенки, а также рыжего соснового шелкопряда с поражающими их паразитами, в первую очередь вирусами ядерного полиэдрома, с одной стороны, и кормовыми растениями с другой. Кормовое растение, являясь основанием трофической пирамиды, влияет на насекомых, определяя их жизнеспособность, с которой в свою очередь связана резистентность филофага против паразитов, в том числе вирусов и паразитиоидов. Индивидуальное развитие и популяционная динамика насекомых-филофагов тесно связаны с качественным состоянием кормового ресурса, которое существенно зависит от уровня дефолиации растений. Развитие насекомых на листе поврежденных растений ухудшает показатели жизнеспособности насекомых, способствует активации в их организме скрытых инфекций и вследствие этого увеличению смертности. Влияние вирусов и паразитиоидов на размер популяций насекомых зависит от жизнеспособности насекомых, в конкретной фазе популяционной динамики и характерным для нее уровнем дефолиации растений.

Выявлено, что с фазами популяционной динамики непарного шелкопряда связан генетический полиморфизм популяций вируса ядерного полиэдрома, поражающего насекомых. В частности по мере увеличения дефолиации кормового растения наблюдается сопряженная изменчивость геномов ВЯП и чувствительности насекомых к вирусу. Вероятно, в популяциях непарного шелкопряда в каждой из фаз вспышки циркулируют штаммы вируса с различной вирулентностью, однако в фазе роста численности насекомого развитие вируса подавляется, в первую очередь репродукция штаммов с низкой вирулентностью. В фазе кризиса, когда резистентность насекомых резко снижается, спектр репродуцирующихся штаммов увеличивается и соответственно возрастает смертность от вирусной инфекции среди насекомых. Это свидетельствует о том, что влияние вируса ядерного полиэдрома на размеры популяций непарного шелкопряда определяется не насыщенностью его популяций вирусом, а уровнем резистентности насекомых к инфекции.

Изучение влияния лесорастительных условий в которых произрастают древостои на популяционную динамику шелкопряда-монашенки и непарного шелкопряда и их пораженность вирусами ядерного полиэдрома показало, что уровень спонтанного полиэдрома среди этих видов лесных насекомых зависит от лесорастительных условий, в которых находятся кормовые растения филофагов. Среди насекомых, развивающихся в насаждениях с пессимальными лесорастительными условиями, уровень спонтанного полиэдрома, восприимчивость к экзогенному инфицированию вирусом и плотность яйцекладок выше, чем среди насекомых, развивающихся в насаждениях с оптимальными лесорастительными условиями. Амплитуда флуктуаций численности непарного шелкопряда и продолжительность всплеск его массового размножения также различаются в лесонасаждениях с различными лесорастительными условиями. В то время как численность насекомых в низкопродуктивных насаждениях в период всплеска массового размножения достигала величин, способных

неоднократно уничтожить кормовой ресурс, численность насекомых в высокопродуктивных древостоях, как правило, могла привести к уничтожению не более чем 50 % кормового ресурса. Массовое появление насекомых в высокопродуктивных насаждениях также продолжалось более короткий отрезок времени и, как следствие, здесь была значительно меньше повреждена листва.

Смертность, обусловленная вирусом ядерного полиэдроза в ювенильных фазах развития непарного шелкопряда в период вспышки, в высокопродуктивных древостоях, также как и у шелкопряда-монашенки была существенно ниже, чем в низкопродуктивных. Вероятно, более высокий уровень гибели насекомых от полиэдроза в низкопродуктивных насаждениях обусловлен значительным снижением резистентности деревьев к воздействию насекомых. Вследствие этого снижается гибель слаборезистентных насекомых в насаждениях с пессимистическими лесорастительными условиями по сравнению с оптимальными. В результате в популяции происходит аккумуляция особей с пониженной жизнеспособностью, более восприимчивых к патогенам. Такие особи, как правило, погибают на стадии гусениц старших возрастов и куколок от вирусной и других инфекций. Они успевают до гибели нанести существенные повреждения древостоям, поскольку питаются почти до терминальной фазы болезни. Поэтому численность гусениц старших возрастов в период вспышки массового размножения в насаждениях с различным функциональным состоянием существенно отличались.

Выявлено также важное значение биотопических (лесорастительных) условий насаждений для динамики популяций рыжего соснового пилильщика и его пораженности ВЯП. Полученные результаты свидетельствуют, что лесорастительные условия, в которых произрастают сосновые культуры, влияют на их заселенность рыжим сосновым пилильщиком. Экологическая плотность личинок пилильщика, как и заселенность ими древостоев, выше в участке с пессимистическими для кормовой породы лесорастительными условиями и, соответственно, выше уровень поврежденности древостоев насекомыми. Чувствительность личинок пилильщика к ВЯП в участках с альтернативными лесорастительными условиями имела достоверные отличия по показателю IT_{50} для личинок 4 возраста.

О важной роли физиологического состояния древостоев для их энтоморезистентности свидетельствуют также результаты опытов по созданию искусственных очагов массового размножения насекомых в высокопродуктивных насаждениях. Основным фактором, из-за которого не происходило развитие искусственных очагов массового размножения насекомых, была резистентность древостоев. Основная часть популяции насекомых в этих насаждениях погибла в фазе гусеницы в младших возрастах, когда патогены и паразитоиды практически не оказывают влияния на численность насекомых, а гибель происходила в основном из-за неблагоприятных условий питания, обусловленных резистентностью древостоев.

Тесная взаимосвязь жизнеспособности популяции насекомых в их реакции на изменения уровня резистентности древостоев после дефолиации выявлена при комплексном использовании данных основных показателей жизнеспособности насекомых и динамики популяционной структуры гемоцитов. Двукратная искусственная 50%-я и 75%-я дефолиация березы повислой индуцирует изменение в физиологическом состоянии насекомых, которое отражается в снижении плодовитости, увеличении количества самцов, повышении смертности в ювенильных возрастах и в активизации у насекомых пролиферативных процессов в гемолимфе. В естественных условиях двукратная 50%-я и 75%-я дефолиация березы непарным шелкопрядом наблюдается обычно на пике численности популяции насекомого, после которого начинается резкое падение ее размеров и, соответственно, деградация очагов массового размножения. Поэтому можно предположить, что индуцированная дефолиацией резистентность древостоев является одним из факторов, регулирующих численность непарного шелкопряда.

С помощью предложенного нами метода анализа экстрактивных веществ показано, что при дефолиации березы наблюдается снижение общего выхода экстрактивных веществ путем снижения содержания в экстрактах стеридов, тритерпеновых соединений и полиарных

полифенольных соединений. Потеря растением листвы сопровождается увеличением в общем липидном экстракте короткоцепочных и ненасыщенных жирных кислот и спиртов, а также снижением содержания флавонов, однако при этом происходит накопление флаванолов, флаванолола и гликозидосодержащих флавонов. В листьях деревьев тотально дефолированных в предыдущем году, содержание флавонолов не меняется, а танинов хотя и увеличивается, но не достигает достоверных значений. В то же время количество катехинов возрастает. Характерной особенностью является то, что в листьях всех поврежденных деревьев резко возрастает вариабельность в содержании всех определяемых фенольных соединений, что свидетельствует о значительных индивидуальных различиях в реакции деревьев на дефолиацию.

Выявленные изменения в содержании вторичных метаболитов происходят в листьях деревьев только через год после их дефолиации. Это свидетельствует, что по изученным нами показателям нам не удалось обнаружить у березы реакцию быстрой индуцированной резистентности, наступающую в сезон нанесения повреждений.

Установлено, что при повышении содержания в листьях деревьев флавоноидов, жирных кислот и спиртов в очаге массового размножения непарного шелкопряда после 75-100% дефолиации падала жизнеспособность насекомых, что приводило к деградации очагов его массового размножения.

Анализ эффективности использования энтомопатогенных вирусных препаратов в управлении численностью массовых видов лесных насекомых свидетельствуют, что, хотя несколько вирусных препаратов с определенным успехом применяются для управления численностью лесных филлофагов в России, перспективы их использования связаны с дальнейшими широкими исследованиями по нескольким направлениям. Это постоянный поиск в естественных популяциях насекомых высоковирулентных штаммов вирусов и создание на их основе усовершенствованных рецептурных форм препаратов с введением в их состав эффективных УФ-протекторов, аттелохеминов и других компонентов, выполняющих роль адъювантов; изменение стратегии применения препаратов и внедрение современных технологий их внесения в насаждения. Названные направления являются, по нашему мнению, первоочередными в рамках задачи по качественному улучшению системы управления численностью лесных насекомых с помощью вирусных препаратов. Дальнейший прогресс в их использовании связан с созданием комплексных биопрепаратов в состав которых будут входить аттелохемины, рекомбинантные вирусы и другие микроорганизмы. Решающим условием успеха этих препаратов мы считаем применение их в системах интегрированной защиты леса.

Основные выводы

1. Вид кормового растения и поврежденность его листвы влияют на чувствительность гусениц непарного шелкопряда к вирусной инфекции. Развитие насекомых на непригодном или поврежденном растении вызывает снижение ЛК₅₀ вируса ядерного полиэдрома.
2. У большинства инфицированных ВЯП гусениц непарного шелкопряда из очагов в продромальной и эруптивной фазах вспышки массового размножения насекомых соответственно с низкими и высокими показателями дефолиации деревьев наблюдаются отличия в динамике гемограммы, морфогенезе вируса в гемоцитах и популяционной структуре гемоцитов.
3. Лесорастительные условия и поврежденность листвы кормовых растений оказывают влияние на сопряженную популяционную динамику непарного шелкопряда, шелкопряда-монашенки, рыжего соснового пилильщика и их паразитов – вирусов и паразитилов. В низкопродуктивных насаждениях и в насаждениях с сильно поврежденной листвой смертность

насекомых от различных инфекций, паразитов и других причин в ювенильных фазах развития выше, а половой индекс, коэффициент размножения и плодовитость ниже.

4. Чувствительность гусениц непарного шелкопряда, выращиваемых на листьях дефолированных деревьев, к ВЯП и репродуктивная активность вируса ниже, чем у гусениц, выращиваемых на листьях интактных деревьев.

5. Высокий уровень вирусоносительства в популяциях непарного шелкопряда при отсутствии воздействия на насекомых неблагоприятных кормовых условий, как правило, не сопровождается соответствующей смертностью от спонтанного полиэдроза.

6. Сопряженная изменчивость генетической структуры ВЯП и чувствительности непарного шелкопряда к вирусу обусловлена фазами вспышки массового размножения насекомого с соответствующими показателями дефолиации кормовых растений.

7. Двукратная 50%-я и 75%-я, дефолиация березы повислой индуцирует изменение в физиологическом состоянии непарного шелкопряда, которое отражается в уменьшении плодовитости, увеличении количества самцов, повышении смертности в ювенильных возрастах и активизирует пролиферативные процессы в гемолимфе. При однократном 75%-м объединении деревьев шелкопрядом у гусениц выявляются только изменения в количестве плазматочитов и гранулоцитов.

8. Выращивание инфицированных вирусом и интактных гусениц непарного шелкопряда на листьях деревьев, дефолированных на 75% и 100% приводит к 1,5-2 кратному снижению активности эстераз и увеличению соотношения RSSR/RSH в средней кишке насекомых. При этом в кишечнике гусениц инфицированных ВЯП, активность эстераз снижается больше, чем в кишечнике интактных гусениц.

9. Дефолиация березы повислой сопровождается количественными изменениями спектра аллелохимиков в листьях, в первую очередь фенольных соединений, что приводит к подавлению жизнеспособности непарного шелкопряда, развивающегося на поврежденных растениях.

10. Современная ситуация с использованием вирусных препаратов против лесных насекомых может быть улучшена путем создания энтомопатогенных биопрепаратов на основе вирусов и аллелохимиков растений и разработкой новой стратегии их применения, включая подавление очагов размножения насекомых на низких уровнях численности.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации

Бахвалов С. А. Биологическое подавление популяций шелкопряда-монашенки (*Lymantria monacha* L.) в Западной Сибири // Сиб. экол. журн.-1995. 2. №5. С. 466-474.

Бахвалов С. А. Вироzy насекомых. // Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / Глунов В. В., ред. М.: Круглый дом. 2001. С. 20 - 75.

Бахвалов С. А. Подавление очагов массового размножения шелкопряда-монашенки вирусным препаратом // Сообщение. 1992. №3. С. 45-51.

Бахвалов С. А., Бахвалова В. Н., Морозова О. В. Взаимосвязь популяционной динамики непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L., *Lym.: Lep.*) и генетического полиморфизма вируса ядерного полиэдроза // Экология. 2002. № 6. - С. 454-458.

Бахвалов С. А., Бахвалова В. Н. Экология бакуловируса шелкопряда-монашенки (*Osneria monacha* L., *Lep., Lymantriidae*). 1. Персистенция бакуловируса в лесной экосистеме. // Известия Сиб. отдел. АН СССР, сер. биол. наук. 1990. №1. С. 50-55.

Бахвалов С. А., Бахвалова В. Н., Ларионов Г. В. Ядерный полиэдроз у непарного *Lymantria dispar* L. (*Lepidoptera, Lymantriidae*): развитие вирусной инфекции в гемоцитах и динамика изменений гемограммы. // Изв. СО РАН СССР., сер. биол. наук. 1981. № 3. С. 132-140.

Бахвалов С. А., Бахвалова В. Н., Мартынянов В. В. Роль трофического фактора в динамике численности насекомых: анализ проблемы // Успехи совр. биол. 2006. Т 126. №1. С. 49-60

Бахвалов С. А., Бахвалова В. Н., Морозова О. В., Мартынянов В. В. Реакция непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) на искусственную и естественную дефолиацию березы (*Betula pendula* Roth) // Евразийский энтомологический журнал. 2006. Т.5. №4. С. 347-352.

- Бахвалов С. А., Башев А. Н., Кнорр И. Б.** Динамика популяций шелкопряда-монашенки и вируса возбудителя ядерного полиэдроза в Западной Сибири // Лесоведение. 1998. №4. - С. 26-33.
- Бахвалов С.А., Девятьярова С.В.** Особенности морфогенеза бакуловирусов при генерализованных полиэдрозах у некоторых чешуекрылых в динамике инфекционного процесса // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1980. N 1. С. 58-65.
- Бахвалов С.А., Жимерикин В.Н.** Эффективность подавления популяций рыжего соснового пилильщика вирусным препаратом Вирин – Диприон: новый подход. // Лесное хозяйство. 2003, № 3. – С. 45-46
- Бахвалов С. А., Жимерикин В. Н., Мартемьянов В. В.** Экологическая плотность и чувствительность к вирусной инфекции рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) в сосновых насаждениях с неоднородными лесорастительными условиями. // Евраз. энтомот. журн. 2003. Т. 2. № 4. С. 261-264.
- Бахвалов С. А., Жимерикин В. Н., Мартемьянов В. В., Штерншис М. В.** Состояние и перспективы использования вирусных препаратов в управлении популяциями лесных насекомых в России // Евразийский энтомот. журнал. 2007. Т. 6. №1. С. 10-18.
- Бахвалов С. А., Ильиных А. В., Жимерикин В. Н., Мартемьянов В. В.** Динамика численности шелкопряда-монашенки *Lymantria monacha* L. и непарного шелкопряда *L. dispar* L. (Lymantriidae, Lepidoptera): роль кормового ресурса и вирусной инфекции // Евраз. энтомот. журн. 2002. Т. 1. №1. С. 101-108.
- Бахвалов С. А., Ларионов Г. В., Бахвалова В. Н.** Выздоровление непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lym., Lep.) после экспериментальной вирусной инфекции // Энтомот. обзор. 1982. Т. 61. №4. С. 755-758
- Бахвалов С. А., Мартемьянов В. В., Пешков Г. П., Дубовский И. М.** Основные причины низкой эффективности микробиологических препаратов в лесозащите России // Лесное хозяйство. 2006. № 7. С. 47-48.
- Бахвалов С. А., Мартемьянов В. В., Подвайт Д.** Сравнительная характеристика биологической активности вирусных препаратов Вирин-НШ и Джипчек (Gypchek). // ЕОЖ. 2005. Т. 4. №3. С. 183-186
- Бахвалов С. А., Недорезов Л. В., Морозова О. В.** Взаимоотношения в трехкомпонентной системе растение-насекомое-вирус в лесных экосистемах. Анализ и моделирование // Первое международное рабочее совещание "Биоразнообразие и динамика экосистем Северной Евразии: информационные технологии и моделирование" (WITA'2001). Тез. докл., Новосибирск: ИЦиГ. 2001. - С. 41.
- Бахвалов С. А., Сыромятникова И.Н., Морозова О. В.** Связь вирусоносительства и острой инфекции, вызванной вирусом ядерного полиэдроза, в природных популяциях непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L., Lym. Lepid.) // Вопросы вирусологии. 2003. Т. 48, № 2. С. 43-45.
- Бахвалов С. А., Хвоцкая М. Ф., Бахвалова В. Н., Глухов В. В.** Структурные изменения в гемограмме непарного шелкопряда (*Osceria dispar* L.) при полиэдрозе. // Вопросы вирусологии. 1999, №1. С. 41-44.
- Бахвалов С. А., Шульц О.Э., Мартемьянов В. В., Маркина Ж. О., Толстиков Г. А.** Реакция непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L., Lym., Lep.) на содержание аллелохимиков в листьях березы (*Betula pendula* Roth) // Энтомологическое обозрение. 2006. Т. LXXXV. № 4. С. 727-736
- Бахвалов С.А., Бахвалова В.Н.** Экология бакуловируса шелкопряда-монашенки (*Osceria monacha* L., Lepidoptera: Lymantriidae). Персистенция вируса в популяциях насекомого. // Экология. 1990. №6. С. 53-59.
- Бахвалов С.А., Бахвалова В.Н., Ларионов Г.В.** О поликариocyтах в гемолимфе гусениц непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) при ядерном полиэдрозе. // Изв. СО АН СССР, сер. биол. 1982. Вып. 2. С. 125 - 129.
- Бахвалов С.А., Ларионов Г.В., Бахвалова В.Н.** Микроскопическое изучение динамики индуцированной бакуловирусной инфекции у гусениц непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L. Lepidop.: Lym.). Киев: Наук. думка // Молекуляр. биол. 1982. Вып. 31. С. 64-77.

- Глулов В. В., Бахвалов С. А. Механизмы резистентности насекомых при патогенезе. //Успехи совр.биологии. 1998. 118. №4. С.466-482.
- Глулов В. В., Бахвалов С. А. Структурно-функциональные особенности гемоцитов при патогенезе. // Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / Под ред. В. В. Глупова. М.: Круглый дом. 2001. С. 513-523.
- Гродницкий Д. Л., Бахвалов С. А., Гниненко Ю. И., Алексеев А., А. Защита лесов Сибири от вредоносных насекомых. Научные основания технологии. Красноярск: 2004. 164 с.
- Ильиных А. В., Бахвалов С. А., Кузьминов С. В., Ульянова Е. Г., Ильиных Ф. А. Биологическое подавление очагов массового размножения непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L., Lepidoptera: Lymantriidae) //Биотехнология. 2004. № 4. С. 72-76.
- Ильиных А.В., Бахвалов С.А., Божко Н.А. Индикация фаз вспышки массового размножения шелкопряда-монашенки. //Лесное хозяйство. 1990. №12. С. 40-41.
- Ильиных А.В., Бахвалов С.А., Моховиков С. М. Естественное вирусоносительство у массовых видов лесных насекомых-фитофагов и его связь с жизнеспособностью хозяев. //Вопр.вирусол.-1995. N4. С.186-187.
- Ларионов Г. В., Барановский В. И., Бахвалов С. А. Опыт разработки, производства и использования вирусных препаратов против вредителей леса. // Биологическая и интегрированная борьба с вредителями в лесных биоценозах. М., 1989. С.134-138.
- Ларионов Г.В., Бахвалов С.А. К вопросу о трансвариальной передаче вируса ядерного полидроза шелкопряда-монашенки // Изв.СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1974. Вып.15. С. 60-65.
- Мартемьянов В. В., Бахвалов С. А., Дубовский И. М., Глулов В., В., Н. Ф.Салахутдинов, академик. Толстиков Г. А. Влияние таниновой кислоты на развитие и резистентность непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) против вирусной инфекции //ДАН. 2006. Т. 409. №3. С. 407-410
- Мартемьянов В. В., Ранта М., Белоусова И. А., Павлушин С. В., Е. И Шаталова, Бахвалов С. А. Влияние замедленной индуцированной резистентности березы на развитие непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) и на его чувствительность к вирусной инфекции //Евразийский энтомол. журн. 2006. Т.5. № 2. С. 105-110.
- Мартемьянов В.В., Бахвалов С. А. Экологические взаимосвязи в системе триотрофа и их влияние на развитие и популяционную динамику лесных филофагов // Евразийский энтомологический журнал. 2007. Т.6. №2. С. 205-221.
- Недорезов Л. В., Ильина Е. А., Бахвалов С. А. Система ресурс – фитофаг – патоген/паразит/: подходы к моделированию и значение в защите леса //Сохранение и защита горных лесов (материалы международного симпозиума). Ош 1999. С.105-108.
- Недорезов Л.В., Ильина Е.А., Бахвалов С. А. Об одной модели системы хозяин - паразит. //Сибирский экологический журнал. 2001. Т.8. N 5. С. 555 - 558.
- Шульц Э. Э., Бахвалов С. А., Мартемьянов В. В., Петрова Т. Н., Сыромятникова И. Н., Шакиров М. М., Толстиков Г. А. Влияние естественной и искусственной дефолиации на содержание и состав экстрактивных веществ листьев березы (*Betula pendula* Roth.) //Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т.41. №1. С. 107- 112.
- Шульц Э. Э., Бахвалов С.А., Мартемьянов В. В., Петрова Т. Н., Шакиров М. М., академик Толстиков Г. А. Влияние естественной и искусственной дефолиации на содержание и состав экстрактивных веществ листьев березы (*Betula pendula* Roth) – методы анализа и результаты. //ДАН. 2004. – 394, № 4. – С. 551 - 554.
- Bakhvalov S. A., Zhimerikin V. N, Martemyanov V. V. The experience and perspective of usage of baculovirus in biocontrol in Russia //25th jubilee assembly of East paleartic regional section //I. Eke ed. Budapest 2005. P.23 - 27.
- Bakhvalov S.A., Bakhvalova V. N., Siromyatnikova I. N. and Morozova O. N. Correlation between gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) population dynamics and genetic polymorphism of corresponding baculovirus. //5th Korea – Russia International Symp. on Science and Technology. - Proceedings. 2001. V. 2. P. 71 – 74.

Bakhvalov S. A., Nedoresov L. V., Morozova O. V. Analysis of interaction between plants, insects and viruses in natural populations. // IVth ISTS Scientific advisory committee seminar on "Basic science in ISTS activities", Novosibirsk, 23-27 April, 2001. 2001. P. 63.

Bakhvalov S.A., Nedoresov L.V., Klepov I.G. Correlations in trophic chain "plant – phyllophagous – parasite" in south part of west siberian forest ecosystems. //Biodiversity and dynamics of ecosystems in North Eurasia. – Novosibirsk, 2000. V.3. Part. 2. P. 220 – 222.

Martemyanov V. V., **Bakhvalov S. A.**, Dubovskiy I. M., Glupov V. V., N. F. Salakhutdinov and Academician Tolstikov G. A.. Effect of Tannic Acid on the Development and Resistance of the Gypsy Moth *Lymantria dispar* L. to Viral Infection // Doklady Biochemistry and Biophysics. 2006. Vol. 409. No.3. pp. 219- 222.

Shul'ts E. E., **Bakhvalov S. A.**, Martem'yanov V. V., Petrova T. N., Syromyatnikova I. N., Shakirov M. M., and Tolstikov G. A.. Effects of natural and artificial defoliation on the content and composition of extractive substances in birch leaves // Applied Biochemistry and Microbiology. 2005. Vol. 41. No.1. P. 94–98.

10 -